

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

“Valor de la Excreción Fraccionada de Fósforo como predictor de fácil manejo de calcificación vascular en pacientes con insuficiencia renal crónica Grado 3”

Autor: Manuel Jiménez Villodres


Director de Tesis Doctoral: Pedro Valdivielso Felices

AÑO 2017



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Manuel Jiménez Villodres

 <http://orcid.org/0000-0002-6410-2546>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina y Dermatología

**D. PEDRO VALDIVIELSO FELICES, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE
MEDICINA Y DERMATOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA**

CERTIFICA: Que D. Manuel Jiménez Villodres, ha obtenido y estudiado personalmente bajo mi dirección, el material necesario para la realización de su Tesis Doctoral titulada "*Valor de la Excreción Fraccionada de Fósforo como Predictor de fácil Manejo de Calcificación Vascular en Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica Grado 3*", la cual ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo, el que suscribe revisado la presente Tesis, y estando conforme para ser juzgada.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente certificado en Málaga, a 13 de enero de 2017


Fdo.: Prof. Dr. D. Pedro Valdivielso Felices



Boulevard Louis Pasteur, 32. 29071 MÁLAGA. Tfno: 952 13 16 15. Fax: 952 13 15 11



GLOSARIO DE ABREVIATURAS

CAC: Cociente Albúmina/Creatinina.
CaxP: Producto Calcio-Fósforo.
CML: Células del Músculo Liso Vascular.
CR: Creatinina.
CSAA: Calcio "Score" Aorta Abdominal.
CSC: Calcio "Score" Coronario.
CV: Calcificación Vascular.
DM: Diabetes Mellitus.
DMOM: Disregulación del Metabolismo Óseo Mineral.
EAPO: Enfermedad Arterial Periférica Obstructiva.
EFPi: Excreción Fraccionada de Fósforo.
ERC: Enfermedad Renal Crónica.
FG: Filtrado Glomerular.
FGF-23: Fibroblast growth factor 23 (Factor de Crecimiento de Fibroblastos 23).
FGFR-1: Fibroblast growth factor receptor 1 (Receptor 1 de FGF).
HPTS: Hiperparatiroidismo secundario.
HTA: Hipertensión Arterial.
HVI: Hipertrofia de Ventrículo Izquierdo.
IC: Insuficiencia Cardíaca.
IK: Índice Kauppila.
ITB: Índice Tobillo/Brazo.
MAB: Microalbuminuria.
MMSS: Miembros Superiores.
MMII: Miembros Inferiores.
mTOR: mammalian target of rapamycin (diana de rapamicina en células de mamífero).
ND: Nefropatía Diabética.
PAS: Presión Arterial Sistólica.
Pmp: paciente por millón de personas.
PTH: Parathormona.
RCV: Riesgo Cardiovascular.
SRAA: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.
TC: Tomografía Computarizada.
TMB: Tetrametilbencidina.
TRS: Terapia Renal Sustitutiva.



- ÍNDICE -

I.	INTRODUCCIÓN.	13
1.	LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.	13
1.1.	Consideraciones Generales.	13
1.2.	Definición.	14
1.3.	Estadios de la Enfermedad Renal Crónica.	14
1.4.	Epidemiología	15
1.5.	Etiología.	17
1.6.	Etiopatogenia y progresión de la Enfermedad Renal Crónica	18
1.7.	Enfermedad Renal Crónica y Riesgo Cardiovascular	19
2.	LA CALCIFICACIÓN VASCULAR	25
2.1.	Definición y tipos.	25
2.2.	Epidemiología.	26
2.3.	Fisiopatología.	29
2.4.	Métodos Diagnósticos de la Calcificación Vascular.	33
2.5.	Riesgo Cardiovascular y Calcificación Vascular.	37
3.	EL METABOLISMO ÓSEO-MINERAL EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.	43
3.1.	Nociones Generales.	43
3.2.	Regulación Hormonal del Metabolismo Óseo-Mineral en el sujeto sano.	44
3.3.	La Disregulación del Metabolismo Óseo-Mineral en la ERC.	45
3.4.	La Disregulación del Metabolismo Óseo-Mineral y la Calcificación Vascular en la ERC.	47
3.5.	El Tratamiento recomendado por consenso de la DMOM.	49
3.6.	Opciones de Tratamiento más allá de las Guías para la DMOM.	51
II.	JUSTIFICACIÓN.	55
1.	HIPÓTESIS.	55
2.	OBJETIVOS.	56
2.1.	PRIMARIOS.	56
2.2.	SECUNDARIOS.	56

III.	MATERIAL Y MÉTODOS.	57
1.	DISEÑO DEL ESTUDIO Y PACIENTES.	57
1.1.	Pacientes.	57
1.2.	Cálculo del Tamaño Muestral.	58
1.3.	Metodología de Trabajo.	58
2.	VARIABLES DEL ESTUDIO.	58
2.1.	Variables Clínicas.	58
2.2.	Variables Antropométricas y Exploratorias.	59
2.3.	Variables Analíticas.	59
2.4.	Variables de Imagen.	60
3.	DESCRIPCIÓN VARIABLES Y MÉTODOS DE MEDICIÓN.	60
3.1.	Variables Analíticas.	60
3.2.	Variables no Analíticas.	63
4.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	65
5.	ASPECTOS ÉTICOS.	65
IV.	RESULTADOS.	67
1.	ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA.	67
2.	ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LA CALCIFICACIÓN VASCULAR	77
V.	DISCUSIÓN.	91
VI.	CONCLUSIONES.	103
VII.	BIBLIOGRAFÍA.	105



AGRADECIMIENTOS



En primer lugar hay que agradecer que esta tesis haya llegado a buen puerto al director de la misma, el Doctor Pedro Valdivielso Felices. Primero por haberme animado a introducirme en el campo de la investigación cuando había decidido abandonarlo, y en segundo lugar el brindarme su ayuda para que todo este proyecto saliera adelante.

A todo el personal de nuestra pequeña gran unidad de Nefrología del Hospital Virgen de la Victoria, que sin el apoyo de todos ellos difícilmente podría haber realizado este trabajo. A nuestro "alma pater", Alfonso Valera Cortés, y a mis compañeras Mónica Martín y Patricia García sin los que no hubiera tenido sujetos con los que trabajar; a Lola Salva y Pilar Orosa, especialmente por esas mañanas en ayunas; a Reme Sánchez, que tantos botes acabó dando. Gracias a cada uno de ellos.

A todo el personal de Radiología del citado hospital que me ha ayudado a llevar a buen puerto este trabajo. A la directora clínica, Dra Mercedes Acebal; al Dr José Villalobos por facilitarme el trabajo logístico; a Guillermo García Gutiérrez, que se ha dejado la vista por el camino; a Emilio y Pura, por su flexibilidad y ganas de hacer cosas. Gracias a todos.

A todo el personal de Laboratorio de nuestro hospital sin el cuál es difícil que una tesis nefrológica salga adelante, haciendo especial mención al Dr Andrés Cobos por su ayuda.

A los Dres María José Ariza Corbo y José Rioja Villodres, que me han facilitado el trabajo de laboratorio y me han equipado como un verdadero tesinando.

A mis padres, sin los que no hubiera llegado hasta este punto, por haberme enseñado los valores con los que me he desenvuelto en la vida y me llevaron a la Medicina. A mi hermana. A los que ya no están.

Y mis dos Elmas, la grande y la pequeña. Por el tiempo que les he robado para hacer este trabajo. Por todas las alegrías que me han dado y me han impulsado a seguir adelante. Y por las que están por venir... Gracias.



TESIS DOCTORAL

**“Valor de la Excreción Fraccionada de
Fósforo como predictor de fácil manejo
de calcificación vascular en pacientes con
insuficiencia renal crónica Grado 3”**





I. INTRODUCCIÓN

1. LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.

1.1. Consideraciones Generales.

Los pacientes con ERC presentan un aumento importante de morbilidad cardiovascular respecto a la población general, siendo aproximadamente el 40% de todas las muertes de dicho origen en este segmento de población¹.

Este exceso de riesgo puede ser consecuencia de una mayor prevalencia de los factores de RCV tradicionales, como la edad, la HTA, la DM y la dislipemia, presentes en estos enfermos. Pero habría que añadir otros factores como la presencia de un aumento de los mediadores inflamatorios, una hiperactivación del SRAA y un disbalance de factores proinflamatorios vasculares que sumados contribuyen a una aterosclerosis acelerada. Es en estas circunstancias en las que aparecen mayor número de eventos cardiovasculares como la enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca, ictus y enfermedad arterial periférica, con lo que los pacientes con ERC están expuestos a una mayor morbilidad cardiovascular¹.

El hecho de que en los estudios iniciales de RCV no se incluyera la función renal ni la albuminuria ha hecho que durante bastante tiempo no se haya tenido en cuenta a la ERC como un factor de RCV². Sin embargo en las últimas dos décadas el número de estudios que han demostrado la relación entre la ERC y el RCV ha sido creciente, hasta que las guías de manejo de HTA europea y americana en 2003 la consideraron por primera vez factor de riesgo independiente, siendo desde entonces considerado un factor de RCV mayor equiparable a los clásicos^{3,4}.

La estimación del riesgo vascular en estos pacientes pasa a ser de importancia mayor que en la población general, de modo que podamos implementar las medidas a prevenirlo o reducirlo. Para ello nos apoyamos en las guías de práctica clínica que nos permiten un tratamiento precoz y sistemático de los principales factores que influyen en la aparición de estos eventos cardiovasculares en la ERC. Pero además a veces se hace necesario el recurrir a pruebas diagnósticas que nos permitan predecir el riesgo de nuestros enfermos.

En el presente estudio hablaremos específicamente de la CV en los pacientes con ERC como un indicador de RCV usado ampliamente en la población general⁵ y particularmente en la población renal⁶. De los pros y contras de su uso, y de otras posibilidades más accesibles para el diagnóstico del grado de CV que nos estima el riesgo de nuestros pacientes.

1.2. Definición.

Independientemente de la etiología que produzca la afectación renal, la definición de ERC es de una anormalidad estructural o funcional renal que permanezca por un tiempo superior a 3 meses y suponga un menoscabo en la salud⁷. La afectación renal puede ser entendida como una anormalidad mantenida en el tiempo o una pérdida de función renal medida mediante el filtrado glomerular.

Las posibles anormalidades son:

1. MAB (>30 mg en orina de 24 horas y/o CAC >30 mg/g).
2. Anomalías en el sedimento urinario.
3. Anormalidades electrolíticas o de otro tipo por tubulopatías.
4. Anomalías estructurales detectadas radiológica o histológicamente.
5. Historia de trasplante renal.

Y más específicamente cualquier deterioro del FG por debajo de 60 ml/min/1,73 m² es considerado ya ERC, por lo que filtrados por encima de 61 ml/min/1.73 m² sin otro tipo de anomalía asociada de las arriba citadas no se considera proceso renal crónico.

1.3. Estadios de la Enfermedad Renal Crónica.

Además de clasificar la ERC por su etiología, las guías internacionales para el manejo de la ERC recomiendan estadiarla según el FG y la MAB⁷.

Combinando ambas se obtiene un cuadro que determina el riesgo de progresión de la ERC según la casilla de dicho cuadro en la que nos encontremos⁷

Tabla 1. Grados de Filtrado Glomerular y Albuminuria (modificado de KDIGO 2012)⁷.

Categorías FG (ml/min/1.73 m ²)	Categorías de MAB		
	A1 Normal a ligeramente aumentada <30 mg/g	A2 Moderadamente aumentada 30-300 mg/g	A3 Gravemente aumentada >300 mg/g
G1 Normal o alto (≥90 ml/min/1.73 m ²)			
G2 Ligeramente descendido (89-60 ml/min/1.73 m ²)			
G3a Ligera a moderadamente descendido (59-45 ml/min/1.73 m ²)			
G3b Moderada a Gravemente descendido (44-30 ml/min/1.73 m ²)			
G4 Gravemente descendido (29-15 ml/min/1.73 m ²)			
G5 Fallo renal (<15 ml/min/1.73 m ²)			

Colores: Verde: Riesgo bajo (si no hay otros marcadores de enfermedad renal o ERC); Amarillo: Riesgo moderadamente aumentado; Naranja: Alto riesgo; y Rojo: Muy alto riesgo.

Como podemos observar la MAB elevada marca de forma determinante la probabilidad de progresión en la ERC aumentando el riesgo en FG no demasiado bajos.

El hecho de estimar el grado de progresión de la ERC viene determinado por la propia etiopatogenia de la ERC, que se caracteriza por un deterioro progresivo de la función renal en función del grado de FG del que partamos y de la MAB que tengamos.

1.4. Epidemiología

La ERC es un problema de salud pública mundial que va en aumento puesto que las principales causas de la ERC son a consecuencia del envejecimiento de la población y las derivadas de la HTA y la DM, enfermedades con mayor prevalencia en todo el mundo de año en año. Los estudios poblacionales epidemiológicos permiten conocer el alcance de este problema debido a que nos permiten detectar ERC en estadios más precoces, antes de la aparición de síntomas⁸. Para hacernos una idea del alcance en la población comentaremos a continuación algunos estudios poblacionales.

En el programa KEEP (Kidney Early Evaluation Program), que es un registro estadounidense promovido por la National Kidney Foundation de personas mayores de 18 años con DM, HTA o historia familiar de ERC, DM o HTA, se recogieron 61675 participantes detectándose una prevalencia en población de riesgo de 27.1% de ERC. El estudio NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) 1999-2004 realizado en población general adulta en EEUU mostró una prevalencia

del 15.3%. Comparando ambos registros podemos observar que la edad avanzada (+61 años), el tabaco, la obesidad, la DM, la HTA y la enfermedad cardiovascular se asocian fuertemente con la ERC⁸. Por estadios el porcentaje frente a la población total de los estudios fue del 3% para el KEEP y 3.2% para el NHANES en estadio 1; estadio 2, 4.9% y 4%; estadio 3 18.1% y 7.5%; estadio 4 y 5 porcentajes del 1.2% y 0.6% respectivamente.

En España, el último estudio de prevalencia de ERC en la población general fue el estudio EPIRCE⁹. Se seleccionó población mayor de 20 años del censo, distribuida por todo el territorio nacional, y estratificada por edad y sexo. La muestra final fueron de 2746 sujetos a los que se determinó la CR sérica y la estimación del FG, así como recopilación de factores de RCV y su relación con la ERC.

La edad media fue de 49.5 años. La prevalencia de la ERC fue del 6.8% con un Intervalo de Confianza entre 5.4-8.2%. Por edad fue del 3.3% en el rango de edad entre 40-64 años y del 21% en mayores de 65 años. La prevalencia por estadio de insuficiencia renal fue del 0.99% para estadio 1 (Tasa de filtrado glomerular, TFG > 90 ml/min), 1,3% para estadio 2 (TFG 60-89); 5,4% para estadio 3a (TFG 45-59); 1,1% para estadio 3b (TFG 30-44); 0,27% para estadio 4 (TFG 15-29), y 0,03% para estadio 5 (TFG < 15). Como dato añadido la prevalencia de factores de RCV "clásicos" fue elevada: dislipemia (29,3%), obesidad (26,1%), HTA (24,1%), DM (9,2%) y tabaquismo activo (25,5%). Los autores concluyeron que además de la edad, la HTA y la obesidad, se asociaron con una mayor prevalencia de ERC.

En otro estudio publicado por Sánchez-Chaparro MA y cols en 2014 procedente del proyecto ICARIA (Ibermutuamur Cardiovascular Risk Assessment)¹⁰, cuyo objetivo era comparar las fórmulas de estimación del FG CKD-EPI y MDRD4-IDMS (Modification of Diet in Renal Disease for Standardized Isotope-Dilution Mass Spectrometry Serum Creatinine equation, versión 4), seleccionaron una población de 128588 trabajadores con rango de edad entre 16-75 años y un 77% de hombres. Obtuvieron que cuando usamos la fórmula CKD-EPI, ésta resulta en una menor prevalencia de ERC (0,26%) frente a MDRD4-IDMS (0,80%). Pero que al realizar la estimación del FG una segunda vez observaron un porcentaje aun menor de prevalencia de ERC, 0,13% con CKD-EPI y 0,26% con MDRD4-IDMS, en contraste con los anteriores estudios poblacionales que sólo hicieron una medición, postulando que dos mediciones separadas son mejores para hacernos una idea real del FG. No obstante, en el análisis multivariante describieron que la HTA, el colesterol total, la glucosa, el HDL-colesterol y el LDL-colesterol (factores de RCV clásicos) se asociaban con la presencia de ERC como en otros estudios.

La posible disparidad de porcentajes desde el 27% del estudio KEEP, 15.3% del NHANES, el 6.8% del EPIRCE y del 0,13% o 0,26% (según la fórmula que tomemos) del ICARIA viene dado probablemente por los métodos de selección de los sujetos. En el primero se escogen sujetos de riesgo, mientras que en los otros dos se trata de población general y el último de población con vida activa predominantemente masculina (población que está involucrada en un mutua de accidentes y salud laboral), que sólo considera ERC con FG por debajo de 60 ml/min/1.73 m².

El hecho de que factores como obesidad, HTA y otros factores de RCV son más prevalentes en la población estadounidense respecto a la española, así como la prevalencia de enfermedad

cardiovascular podrían explicar la diferencia entre los dos últimos estudios. No obstante, independientemente de cifras, nos encontramos ante un problema de salud pública importante, estrechamente relacionado con la enfermedad cardiovascular y los factores de RCV de la misma.

1.5. Etiología.

Aunque la prevalencia de la ERC es considerable, sólo un pequeño porcentaje de estos enfermos acaban desarrollando una insuficiencia renal avanzada (Estadio 5). En general los registros internacionales, y el español, se centran en la etiología de la ERC asociada a aquellos pacientes que se ven obligados a iniciar terapia renal sustitutiva, o lo que es lo mismo, se centran en las causas que conllevan un peor pronóstico de la ERC¹¹.

El registro español toma datos de cada uno de los registros autonómicos de los servicios de salud pública de dichas autonomías. El último registro se ciñe al período 2007-2013. Ciñéndonos a 2013 precisaron terapia renal sustitutiva 5705 pacientes (127 pacientes por millón de habitantes, pmp, aproximadamente). Las causas de la ERC a 2013 fueron:

Tabla 2. Causas de Enfermedad Renal Crónica que precisan Terapia Renal Sustitutiva¹¹.

Nefropatía Diabética (ND)	24,6%
No Filiada	20,8%
Vascular	16,2%
Glomerulonefritis	12,5%
Nefropatía Intersticial	8,8%
Enfermedad Poliquística	7,1%
Enfermedades Sistémicas	4,8%
Otras	3,5%
Enfermedades Hereditarias	1,7%

Se aprecia aumento, sobretudo, de la ND como causa de ERC avanzada pasando del 20.4% en 2007 al 24.6% en 2013 y una tasa de prevalencia en TRS de 1087,5 pmp, con 1307,7 pmp para varones y 809,8 pmp para mujeres. El porcentaje de DM en estos pacientes prevalentes de 2007 a 2013 subió de 13.9% a 14.9%¹¹.

Es por tanto la DM, junto con la causa vascular, la principal etiología de ERC incidente y prevalente en la población española que finalmente precisa TRS.

1.6. Etiopatogenia y progresión de la Enfermedad Renal Crónica

De la ERC podemos hablar que es un cuadro progresivo en el que existen una serie de “factores de susceptibilidad” que aumentan el riesgo de que aparezca la ERC, otros “factores iniciadores” implicados en la aparición de daño en la ERC y por último los “factores de progresión” que determinan la velocidad de deterioro de la ERC¹².

Tabla 3. Factores de riesgo de Enfermedad Renal Crónica (modificado de Levey y cols)¹².

Factores de Susceptibilidad	Aumentan el Riesgo de ERC	-Edad >60 años. -Historia Familiar ERC. -Bajo Peso al nacer. -Raza Afroamericana. -Diabetes Mellitus*. -Hipertensión Arterial.
Factores Iniciadores	Implicados en el Inicio del daño Renal	-Enf. Autoinmunes. -Infecciones Urinarias. -Nefrotóxicos. -Diabetes Mellitus*. -Hipertensión Arterial.
Factores de Progresión	Determinan la progresión de la ERC	-Proteinuria Persistente. -HTA mal controlada*. -Diabetes mal controlada*. -Tabaco*. -Dislipemia*. -Anemia. -Enfermedades Cardiovasculares.

*Factores de Riesgo Cardiovasculares potencialmente modificables.

Muchos pacientes durante su evolución van a experimentar una progresión muy lenta o incluso no progresarán, en cambio otros que presentan factores principales para la progresión, como proteinuria de alto rango, pueden tener un deterioro de la función renal acelerado. Porque independientemente de la causa y vías patogénicas de la ERC, los hallazgos histológicos son muy similares sea cual sea la etiología inicial, lo que nos sugiere mecanismos comunes en la progresión de la enfermedad renal¹³.

La tasa media de pérdida de FG a partir de los 40 años es de 0.7-1 ml/min/1.73 m² por año¹⁴. Esta tasa es mayor en determinados subgrupos de pacientes, como por ejemplo los HTA, DM o con proteinuria importante. En este último caso, hay múltiples estudios que muestran que una elevada proteinuria/MAB representa un mejor marcador de riesgo de progresión que el propio FG¹⁵.

Los factores de progresión anteriormente citados han demostrado su relación con el deterioro renal, poniendo en marcha mecanismos pro-inflamatorios y hemodinámicos que van a ocasionar una esclerosis glomerular e intersticial progresiva, siendo el principal de todos ellos el regido por el SRAA¹³.

Y es que la propia pérdida de nefronas funcionantes origina una activación del SRAA para aumentar el filtrado de las nefronas restantes, poniendo en marcha mecanismos hemodinámicos (hiperfiltración por vasoconstricción de la arteriola eferente) y aumento de factores de crecimen-

to, factores fibrogénicos y proinflamatorios que originaran la esclerosis. Es el esquema postulado por la teoría de la hiperfiltración glomerular que trata de explicar los motivos de la progresión que terminan afectando a las nefronas restantes creando un círculo vicioso de deterioro renal^{13,16}.

La importancia de la progresión en la ERC, además de la lógica necesidad futura de TRS, es que se relaciona con un aumento del RCV en estos pacientes, independientemente de los factores de RCV que ya tengan, con el incremento de la morbilidad que esto conlleva¹⁷.

1.7. Enfermedad Renal Crónica y Riesgo Cardiovascular

Es bien sabido que la morbilidad por eventos ateroscleróticos es superior en los pacientes con ERC respecto a la población general¹. Esto fue detectado en primer lugar en la población en diálisis, donde se apreciaba que el 50% de los pacientes fallecían por causa cardiovascular. Pero este hecho fue observado también en estadios menos avanzados de ERC donde se detectaba un aumento del riesgo, respecto a la población general, mayor a peor filtrado glomerular:

Tabla 4. Riesgo Cardiovascular acorde al Estadio de Enfermedad Renal Crónica (modificado de Schiffrin y cols)¹.

Estadio	Riesgo Cardiovascular* (Odds Ratio, Univariante)
1	Depende del grado de Proteinuria
2	1,5
3	De 2 a 4
4	De 4 a 10
5	De 10 a 50
ERC en Tratamiento Sustitutivo	De 20 a 1000

*El incremento del Riesgo en la ERC en comparación con la población general depende de la edad de la población estudiada: La población joven, presenta el mayor incremento del Riesgo Relativo. La MAB incrementa de 2 a 4 veces el Riesgo.

De hecho, cuando tomamos la población en los estadios 3 y 4 de la ERC, tienen más riesgo de muerte cardiovascular que riesgo de llegar a necesitar TRS.

Uno de los mayores estudios poblacionales realizados que observó esta relación fue el realizado por Levey AS y cols¹⁸, donde detectaron un aumento del riesgo de eventos cardiovasculares a menor FG. Tomando como riesgo relativo de 1 el filtrado superior a 60 ml/min/1.73 m², encontraron que con FG entre 45-59, el riesgo relativo de sufrir un evento CV era de 1.4, de 1.8 con FG entre 30-44, de 2.8 entre 15-29 y de 3.4 cuando el filtrado caía por debajo de 15 ml/min/1.73 m².

Pero no sólo en población general se puede observar esta relación. En sujetos con enfermedad cardiovascular establecida o pacientes con alto RCV se ha demostrado que la presencia del deterioro en la función renal aumenta la probabilidad de nuevos eventos¹⁹.

Además del descenso del FG, la MAB se ha relacionado con el RCV²⁰. Esta relación se observó en primer lugar en los casos de albuminuria elevada (CAC>300 mg/g)²¹, sean pacientes diabéticos o no diabéticos, y posteriormente se describió dicha relación en los casos de MAB (CAC entre 30-300 mg/g)²².

Esta relación no sólo es proporcional a la cuantía de la proteinuria sino que al intentar corregirla con medidas farmacológicas ha demostrado la reducción del RCV y de la progresión de la ERC. Esto se aprecia en la publicación realizada por De Zeeuw y cols²³. En ella realizan un análisis post hoc del estudio RENAAL (Reduction of End points in NIDDM (diabéticos no indulindependientes) with the Angiotensin II Antagonist Losartan).

Separando a los pacientes en 3 tertiles de CAC (<1500 mg/g, 1500-3000 mg/g y >3000 mg/g), la diferencia de riesgo relativo de aparición de evento cardiovascular entre el tercil más bajo y el más alto fue de 1.92 y de 2.7 para episodio de IC, siendo el CAC en el análisis multivariante el marcador predictor más fuerte de evento cardiovascular. Pero más significativo fueron los hallazgos obtenidos tras 6 meses de tratamiento con Losartan. En ellos, una reducción del 50% en la MAB se tradujo en una reducción del 18% en eventos cardiovasculares y del 27% en la aparición de IC.

Esta relación del CAC con el RCV no sólo ha sido observada en niveles elevados, sino también en niveles de MAB (rango CAC 30-300 mg/g). En el estudio HOPE²⁴ se observó un aumento del riesgo relativo de evento cardiovascular (Muerte cardiovascular, Ictus o Infarto Agudo de Miocardio (IAM)) de 1.97 en diabéticos y de 1.61 en los no diabéticos de aquellos pacientes con algún tipo de albuminuria (CAC>17.7 mg/g) con respecto a aquellos que no tenían albuminuria objetivable. La

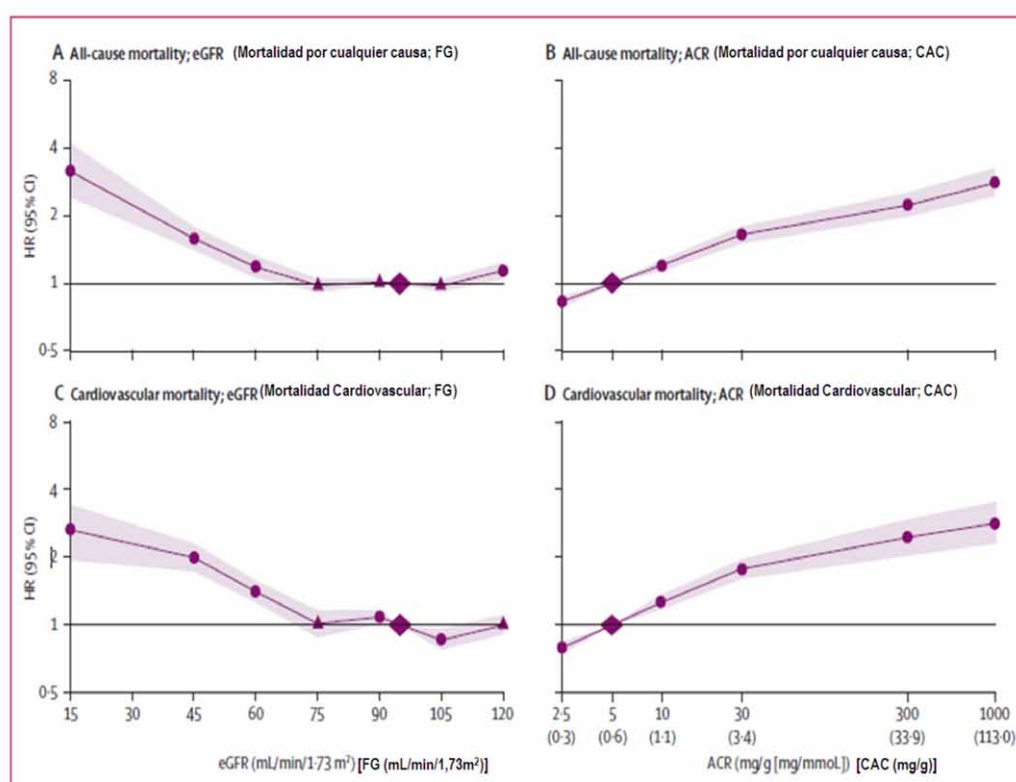
población del estudio HOPE era una población de alto RCV, pero en otros estudios de población general la albuminuria ha demostrado que aumenta el riesgo de eventos cardiovasculares²⁵.

En 2010 se publicó en la revista The Lancet un metanálisis de los estudios más importantes realizados en los que se analizaba la relación entre morbilidad cardiovascular y enfermedad renal crónica (entendida como caída del FG por debajo de 60 ml/min/1.73 m² y/o CAC elevado)²⁰.

El metanálisis incluye a 105872 de sujetos con CAC medido y 1128310 de sujetos con sólo la tira de orina. Tomando como referencia el FG de 95 ml/min/1.73 m² el riesgo de muerte aumenta a medida que el FG cae. Siendo máximo con FG inferior a 15 ml/min/1.73 m² donde el riesgo relativo llega a 3,14 respecto a 95 ml/min/1.73 m².

En el caso del CAC, tomando las cifras de 10 mg/g como riesgo relativo 1 de muerte por cualquier causa, cuando éste sube a 300 mg/g el riesgo relativo de muerte se eleva a 2.22.

Gráfico 1. Riesgo de Mortalidad por Cualquier Causa y Cardiovascular según el Filtrado Glomerular y la Albuminuria por separado*²⁰.

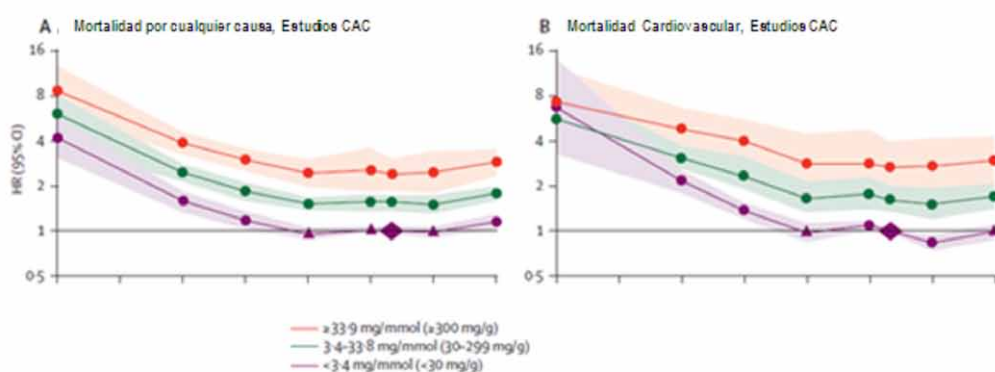


*La referencia de la "normalidad" está representada por el diamante, cuyos valores son un FG de 95 mL/min/1.73 m² y CAC de 5 mg/g. Los círculos representan cambios en el Riesgo estadísticamente significativos y los triángulos no significativos.

Como puede apreciarse en la gráfica la mortalidad cardiovascular fue similar a la “mortalidad por cualquier causa”.

Cuando estudiamos ambas alteraciones a la vez observamos que se potencian aumentando el riesgo de forma exponencial:

Gráfico 2. Riesgo de Mortalidad por Cualquier Causa y Cardiovascular según el Filtrado Glomerular y la Albuminuria asociados*²⁰.



*La referencia de la “normalidad” está representada por el diamante, cuyos valores son un FG de 95 mL/min/1.73 m² y CAC de hasta 30 mg/g. En el Eje de abscisa está representado el Filtrado Glomerular como en la gráfica anterior. Los círculos representan cambios en el Riesgo estadísticamente significativos y los triángulos no significativos.

Estos hallazgos son los que han llevado a las guías clínicas internacionales a estratificar el RCV según el FG y el CAC combinando ambas variables, ya que tanto un FG inferior a 60 mL/min/1.73 m² o un CAC superior a 10 mg/g pueden considerarse factores de RCV independientes²⁰.

Ahora bien, ¿cuál es la causa de que los pacientes con ERC tengan más riesgo cardiovascular que la población general? A continuación relataremos las bases fisiopatológicas que tratan de explicarlo...

1.7.1. Fisiopatología de los eventos cardiovasculares en la ERC.

La morbimortalidad cardiovascular viene determinada por la enfermedad vascular, y más específicamente lo que clásicamente se denominaba la aterosclerosis y la arterioesclerosis. Ésta se desarrolla en la población general ante la presencia de una serie factores de RCV ya conocidos (tradicionales) a lo que hay que sumar en la población renal otra serie de factores de riesgo no tradicionales presentes en la ERC²⁶:

Tabla 5. Factores de Riesgo tradicionales frente a los no tradicionales en la ERC (modificado de Oliva-Dámaso y cols)²⁶.

Factores de Riesgo Cardiovascular Tradicionales	Factores de Riesgo Cardiovascular no Tradicionales
<ul style="list-style-type: none"> -Edad Avanzada. -Sexo Masculino. -Raza Blanca. -Hipertensión Arterial. -LDL-Colesterol alto/HDL-Colesterol bajo. -Diabetes Mellitus. -Tabaquismo. -Sedentarismo. -Menopausia. -Estrés Psicosocial. -Antecedentes Familiares de Enfermedad Cardiovascular. 	<ul style="list-style-type: none"> -Disminución Tasa de FG. -Proteinuria. -Aumento de Actividad del Sistema Renina-Angiotensina. -Sobrecarga de Volumen Extracelular. -Alteración Metabolismo Fosfocálcico. -Anemia. -Malnutrición. -Inflamación. -Infección. -Factores Trombogénicos. -Estrés Oxidativo. -Hiperhomocisteinemia. -Toxinas Urémicas.

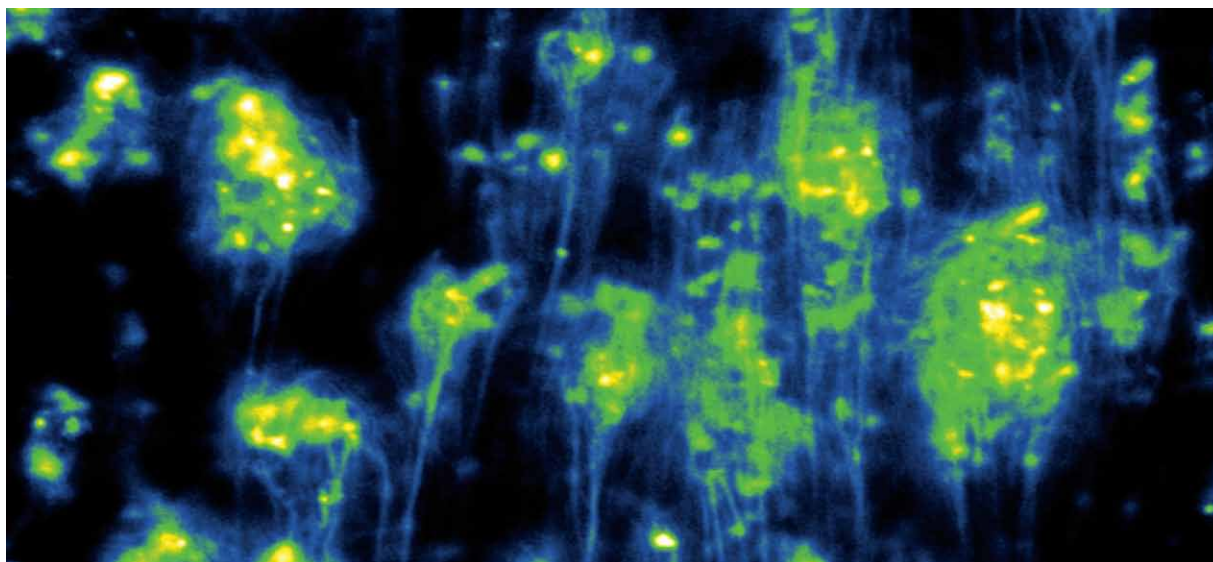
Descrito someramente, el propio descenso de nefronas funcionantes provoca de forma inherente a la ERC dos mecanismos que incrementan el RCV que son la sobreactivación del SRAA y la retención hidrosalina que van a originar un empeoramiento de la HTA que de forma sistemática, bien a priori, antes del desarrollo de la ERC, o a posteriori por ésta misma que origine la HTA, van a producir lesión intimal del vaso y del miocardio (hipertrofia de ventrículo izquierdo)²⁷.

Además la sobreexpresión de marcadores bioquímicos de disfunción endotelial en diferentes niveles van a llevar al vaso a una arterioesclerosis acelerada en la población renal¹. Esto ha sido descrito en diferentes vías del metabolismo endotelial como, por ejemplo, a nivel de la vía del óxido nítrico (potente vasodilatador endógeno) como la L-Arginina y la Dimetilarginina asimétrica (ADMA) que son potentes inhibidores de la Oxido nítrico sintetasa (NOS)²⁸; a nivel de la inflamación con el ascenso de sustancias como la molécula de adhesión celular vascular-1 soluble (sVCAM-1) y la E-selectina soluble relacionadas con la inflamación del endotelio y marcadores precoces de lesión endotelial^{28,29}; y la sobreexpresión de factores protrombóticos como el factor de von Willebrand²⁸.

Por ello, desde hace tiempo, la ERC puede considerarse un factor de riesgo para el desarrollo de la arterioesclerosis, siendo decisiva la progresión ya que a mayor deterioro del FG o ascenso de la MAB mayor va a ser la lesión endotelial³⁰. Todos estos factores sumados van a originar un doble mecanismo, por un lado un incremento del RCV y por otro un aumento en la progresión de la ERC que actúa como “catalizador” en el incremento del RCV en estos sujetos lo que explica el aumento de de mortalidad²⁶.

Por último la CV en el paciente renal está más extendida que en la población general⁶, teniendo dos formas de expresión, una como calcificación acelerada de la placa de ateroma; y otra afectando a la capa media y al músculo liso de las arterias, de la lámina elástica de los grandes y medianos vasos, o por último en las válvulas cardíacas³¹. Nosotros nos centraremos en este factor especialmente presente en nuestros enfermos renales, pero de ello hablaremos más exhaustivamente en las próximas páginas.





2. LA CALCIFICACIÓN VASCULAR

La CV representa un problema de salud debido a que aumenta la rigidez vascular del sistema arterial circulatorio, produciéndose de forma secundaria un aumento de la HTA, la HVI izquierda y un empeoramiento de la circulación periférica. Durante años ha sido considerada como estadio final de la aterosclerosis y que se forma por un proceso pasivo debido al depósito de calcio y fosfato, relacionándose con el proceso de envejecimiento. Sin embargo, y como veremos, se trata de un proceso activo en el que múltiples mediadores participan en su aparición y desarrollo³².

2.1. Definición y tipos.

La CV se define como el depósito de fosfato cálcico en forma de cristales de bioapatita (similar a como sucede en el hueso), pudiendo ocurrir en las paredes de los vasos sanguíneos o en las válvulas cardíacas³³.

El depósito de dichos cristales más frecuentemente hallado puede suceder bien en la capa íntima o bien en la capa media, como describió Monckeberg por primera vez en 1903³⁴. La primera estaría relacionada con la historia evolutiva de la aterosclerosis (placa de ateroma), en la que un aumento de la deposición de lípidos y el infiltrado de células inflamatorias promoverían el depósito del fosfato cálcico en su estadio final pudiendo originar la ruptura de la placa, y por ello con un fuerte valor predictivo de eventos cardiovasculares³⁵; mientras que en la segunda tendría más influencia el cambio de fenotipo de las CML hacia células similares a osteoblastos (osteocon-

drogénicas) originando un mecanismo de “rigidez” vascular con aumento de la velocidad de onda de pulso, HVI y finalmente IC³⁶. Por tanto, ambas formas contribuyen a la mortalidad cardiovascular.

En el caso de la CV de la media clásicamente existen cuatro estadios de dicha calcificación descritas por Monckeberg:

- I) Calcificación granular junto a la elástica interna.
- II) Aumento del tamaño de la calcificación con formación de placas que no abarcan la circunferencia completa (se asocia a hiperplasia subendotelial de la íntima).
- III) La calcificación distorsiona toda la capa media completando totalmente la circunferencia (se asocia a hiperplasia subendotelial de la íntima).
- IV) Calcificación y aparición de focos de tejido óseo (metaplasia ósea).

Existen otras dos formas de CV más específicas que no trataremos en profundidad, que son la calcificación valvular (que consideran algunos autores una subclase de la calcificación de la media³²), y la calcifilaxis que se desarrolla en los estadios finales de la ERC y que no desarrollaremos en el presente escrito.

2.2. Epidemiología.

La CV puede variar en prevalencia según el método que usemos para detectarla. Si usamos métodos radiológicos esta prevalencia puede variar también según los territorios vasculares que usemos, aunque la mayoría de los estudios se han centrado principalmente en las coronarias y la aorta abdominal^{37,38}. En el primer estudio realizado mediante radiología convencional de la aorta abdominal se observó la presencia de algún tipo de calcificación vascular en el 65% en una población de edad media de 61 años.

El estudio tuvo una duración en el seguimiento de 22 años y se observó que el grado de la calcificación se correlaciona con un valor predictivo positivo claro con la mortalidad cardiovascular en pacientes con aterosclerosis subclínica³⁷. En el segundo estudio, mediante tomografía computarizada, se estudió el árbol vascular coronario con un posterior seguimiento de 2 años. Se observó que los sujetos que superaban cierto dintel de depósito de calcio en su árbol vascular coronario sufrieron un 36% más de enfermedad coronaria en forma de infarto de miocardio o

muerte coronaria, respecto a aquellos que no lo superaron al inicio del estudio³⁸.

El mayor estudio de prevalencia de calcificación vascular se publicó en EEUU en 2005³⁹. Se estudió mediante tomografía computarizada el árbol vascular coronario. El rango de edad fue entre 45 y 84 años de personas sin manifestaciones clínicas de enfermedad cardiovascular. La prevalencia de CV en hombres fue de 70.4% en blancos, 52.1% en negros, 56.5% en hispanos y 59.2% en chinos; mientras en mujeres fue de 44.6% en blancas, 36.5% en negras, 34.9% en hispanas y 41.9% en chinas.

Un estudio muy similar publicado el mismo año recogió población de EEUU en principio sin patología cardiovascular (n: 3166) divididos en 2 etnias, raza blanca y negra, y a su vez por sexos en 4 grupos⁴⁰. Se le realizó Tomografía coronaria y de la aorta abdominal. La edad media de los 4 grupos osciló entre los 51.6 y los 57.2 años. Presentaron CV coronaria similar al estudio previo y en la aorta abdominal de 61.7% en el grupo de las mujeres afroamericanas y del 71% en los dos grupos de varones (muy similares), siendo el grupo intermedio el de las mujeres blancas con un 65.5%. Sin embargo cuando seleccionamos un grado de calcificación relevante (aquella que se relaciona con un aumento del RCV) cambian los porcentajes, siendo el mayor en varones blancos con un 37.8% y el menor en las mujeres afroamericanas con un 24.2%, quedando en el 31.2% para los varones afroamericanos y en el 28% para las mujeres blancas.

En un estudio comparativo posterior realizado en población japonesa⁴¹, donde se compara a 832 japoneses frente a 1067 pacientes de raza caucásica de EEUU, se aprecia una mayor incidencia de CV en la raza caucásica que aumenta con la edad. En la franja de edad entre 45 y 54 años la raza caucásica tiene un riesgo relativo de 2.05 veces por encima de la población japonesa, mientras que en la franja de mayor edad del estudio (entre 65 y 74 años) éste subía a un 3.86.

Otro estudio reciente realizado en Singapur⁴² entre 3 grupos étnicos diferentes donde también se mide el grado de CV coronario se reclutaron 1041 pacientes, de los cuales 810 fueron de etnia china, 139 malayos y 92 indios. El porcentaje de población con CV fue de 49.5% de media, con un reparto por etnias de 50.4% en chinos, 46.8% en malayos y 45.7% en indios (sin diferencias significativas).

A nivel europeo podemos encontrar otro estudio de 1156 pacientes⁴³ a los que se le realiza tomografía coronaria en personas inicialmente sanas con edades comprendidas entre los 50 y 60 años. Demostró la presencia de un 39.96% de calcificación a dicho nivel. Posteriormente en el seguimiento de dicha población se detectó la presencia de HTA y dislipemia de forma más acusada

en el grupo de pacientes con calcificación que aquellos que no la tenían.

Por último, a nivel español, en 2010 se ha puesto en marcha el estudio PESA (The Progression and Early detection of Subclinical Atherosclerosis)⁴⁴, un estudio observacional, longitudinal y prospectivo de una cohorte de 4000 sujetos sanos cuya fase de reclutamiento finalizaba en 2013 pero con un seguimiento posterior de 6 años con repetición de las pruebas de imagen a los 3 y 6 años. Dichas pruebas de imagen incluyen la tomografía coronaria para la detección del grado de calcificación vascular. Los datos preliminares recogidos por Fernández-Frías y cols publicados en 2015⁴⁵ muestran una población con edad comprendida entre los 40 a los 54 años.

La prevalencia de CV medida mediante TC en territorio coronario fue del 18%. Se midieron otros 3 territorios, iliofemoral, carotídeo y aórtico, mediante ultrasonografía bi y tridimensional. Y en este caso tuvieron una prevalencia del 44% en el territorio iliofemoral, 31% en el carotídeo y del 25% en el aórtico.

La CV es, por tanto, un trastorno que tiene una prevalencia elevada en toda la población (entre un 25 a un 65% según el estudio) y se relaciona fuertemente con la edad. No obstante los diferentes estudios nos hablan que aunque la presencia de calcificación es muy prevalente a partir de los 50 años, los grados más elevados se relacionan con sujetos con RCV moderado/alto por presencia de varios factores de RCV simultáneos (en este caso los porcentajes se ajustan más estando entre un 25-40% de la población estudiada)^{39,40,43}. Afecta a toda la población mundial, aunque parece ser que la etnia blanca en EEUU es claramente la que tiene mayores porcentajes de afectación^{39-41,43}.

Aunque la CV prácticamente se universaliza en la población general cuando realizamos estudios de detección en población sana mayor de 60 años, la ERC, la DM y la aterosclerosis son las entidades clínicas que más contribuyen a la progresión en las capas íntima y medial del vaso⁴⁶. Es en presencia de estas entidades cuando más habitualmente el grado de calcificación alcanza niveles en los que se asocia a la presencia, más tarde o más temprano, de patología cardiovascular.

2.3. Fisiopatología.

2.3.1. Diferencias entre Lesión íntima o de la media en la Calcificación Vascular.

La enfermedad vascular representa la primera causa de mortalidad en el mundo occidental. El sustrato anatomopatológico de la enfermedad vascular se definía como una serie de alteraciones en las diferentes capas de los vasos arteriales, principalmente. Ésta podía manifestarse como una afectación a nivel subintimal en forma de aumento de depósito lipídico, inflamación, fibrosis y desarrollo de placas, y en este caso nos encontraríamos con lo que clásicamente llamábamos “ateroesclerosis”; o por el contrario cambios en la capa media de los vasos que era denominada “arterioesclerosis”.

En la actualidad, hablamos de arterioesclerosis con afectación íntimo-subintimal o con afectación de la capa media. Ambas terminan apareciendo con la edad y comparten factores de riesgo y frecuentemente coexisten en los diferentes vasos de los pacientes, pero también pueden ocurrir independientemente una de la otra⁴⁷. En el primer caso es típico la presencia de células inflamatorias en la íntima, principalmente células T y macrófagos, con proliferación de CML y disfunción del endotelio. Por el contrario, en la afectación de la capa media son las CML las que tiene un papel preponderante.

La CV puede aparecer en ambas entidades y se corresponde con la última fase de la enfermedad del vaso⁴⁸.

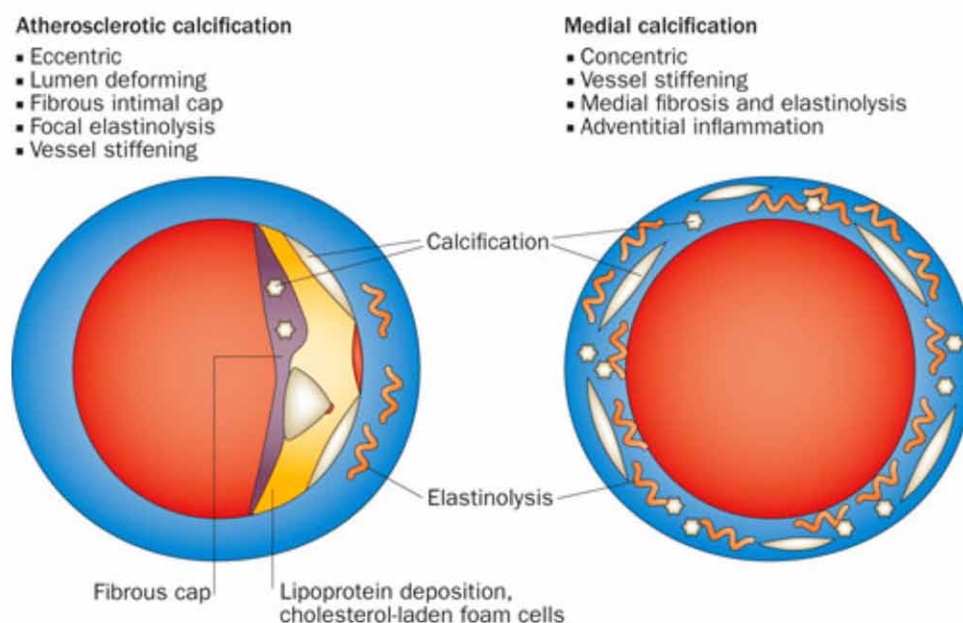


Ilustración 1. Tipos de Calcificación Vascular⁴⁹.

Así que en función de los mecanismos puestos en marcha podemos diferenciar entre una CV de la íntima o una CV de la media.

En el caso de la primera forma son los factores de riesgo tradicionales los que influyen decisivamente en su aparición. Por el contrario, en el caso de la calcificación de la media, aunque los factores de RCV tradicionales influyen también, son otras las alteraciones que originan esta problemática que se dan principalmente con el envejecimiento, la diabetes mellitus tipo 2, la ERC y con enfermedades que alteran el metabolismo calcio-fósforo-vitamina D.

Existen otras entidades hereditarias menos frecuentes que también producen éste depósito de calcio en la media del vaso, como la Calcificación Arterial debida al déficit de CD73, Calcificación Arterial generalizada de la infancia, Pseudoxantoma elástico, β -talasemia, síndrome Singleton-Merten, etc de las que no hablaremos.

A nivel celular el mecanismo de aparición de la calcificación también es diferente. En la forma que afecta a la íntima se discute si es un estadio final de la progresión de la placa o un mecanismo de adaptativo que estabiliza la misma⁵⁰. En este caso se sitúa entre la lámina elástica interna y el endotelio, distribuyéndose de forma parcheada como consecuencia inicialmente de la apoptosis de CML o zonas más extensas cuando el mecanismo implicado es la apoptosis de macrófagos en el seno del núcleo necrótico de la placa.

Por el contrario en la calcificación de la media se sitúa entre la elástica interna y la externa (capa media), y se gesta por un mecanismo de des-diferenciación de la CML en una con fenotipo de osteoblasto/condroblasto que genera el depósito de hidroxiapatita (bioapatita), siendo este segundo mecanismo el más frecuentemente observado en los pacientes con ERC.

Por último, parece que en el caso de la calcificación de la íntima son más decisivos los fenómenos inflamatorios locales y de estrés oxidativo, frente a la calcificación de la media que suele darse en circunstancias de inflamación sistémica (diabetes mellitus, insuficiencia renal, edad avanzada).

2.3.2. Mecanismo de calcificación vascular de la media

El mecanismo de calcificación arterial es complejo y multifactorial. Sin embargo, en lo que coinciden todos los autores es que se produce, como comentábamos, una transformación de la CML en fenotipo osteocondrogénico. Ambas estirpes tienen el mismo origen embrionario mes-enquimal. En el caso del osteoblasto se produce una sobreexpresión del gen RUNX2 (siglas en inglés de Runt-related transcription factor 2), lo que origina la secreción de matriz extracelular de proteínas que luego con el depósito de fosfato cálcico formaran la matriz ósea. En los tejidos con des-diferenciación de las CML se ha observado también la sobreexpresión de dicho gen⁵¹.

Concretamente las funciones que adquieren estas células des-diferenciadas pueden resumirse en tres grandes mecanismos:

i) la transformación misma a fenotipo osteocondrogénico (que es cuando comenzamos a detectar la expresión de genes típicos de fenotipo osteocondrogénico)

ii) creación de estructuras vesiculares de depósito de fosfato cálcico en tejidos blandos (se depositan sobre fibras de elastina y no colágeno tipo I como sucede en el hueso)

iii) endocitosis y consecuente toxicidad celular de dichas estructuras (fenómenos de apoptosis y necrosis locales)⁴⁸.

No obstante, independientemente de la patología que origine el proceso de diferenciación osteogénica del músculo liso, en ésta hay una serie de elementos comunes a todos centrados principalmente en un desbalance de las proteínas de modulación osteogénica. A nivel local se produce un descenso (consumo) de sustancias inhibitoras de la calcificación como la proteína de la matriz Gla vitamina K dependiente (MPG), el pirofosfato inorgánico (PPi), la fetuina A y la osteoprotegerina (OPG) al tiempo que mecanismos pro-osificantes, diferentes según la patología de base, se manifiestan.

En la DM, la hiperglucemia y los productos avanzados de la glicación (PAG) incrementan una serie de mediadores como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la osteopontina (OPN) o la proteína morfogénica ósea 2 (BMP-2) que inducen la sobre-expresión de RUNX² y la desdiferenciación celular. Se produce una migración celular de miofibroblastos a la capa media principalmente, con engrosamiento, remodelado y finalmente calcificación de la misma como estadio final³².

En la ERC es el exceso de niveles de Fósforo, y en segundo término del Calcio, los que generan la sobreexpresión del gen junto con la presencia de una inflamación crónica sistémica. Parece que pasado un dintel de niveles de fósforo los sistemas anti-calcificación son sobrepasados y se pone en marcha la transformación^{48,52}.

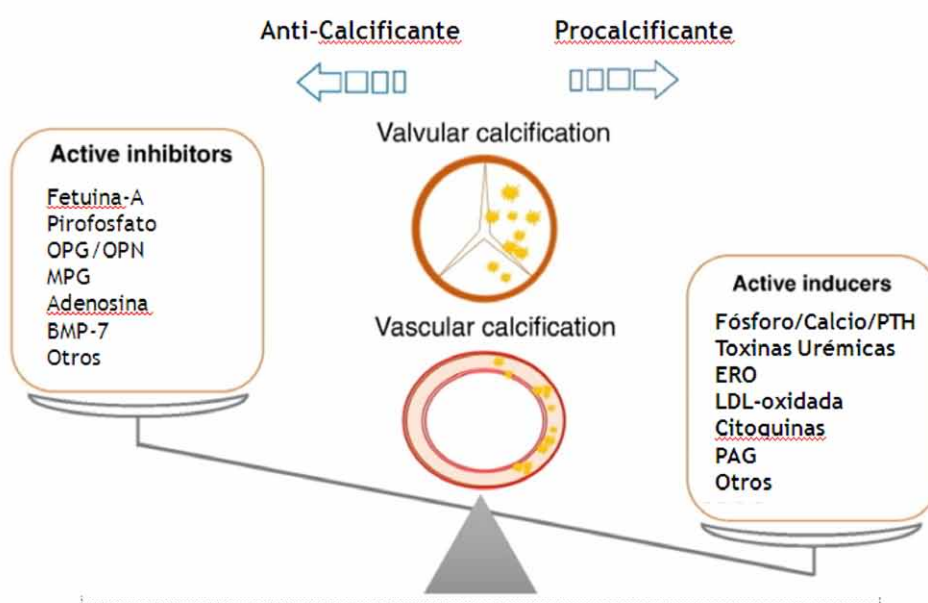


Ilustración 2. Desequilibrio entre Factores Anti-Calcificantes y Pro-Calcificantes (modificado de Yamada y cols)⁵².

OPN: Osteopontina; OPG: osteoprotegerina; MPG: proteína de la matriz Gla; BMP-7: Proteína Morfogénica Ósea 7; AGEs: Productos de Glicación Avanzada; ERO: especies reactivas del oxígeno.

En este caso se ha observado que las CML expresan el subtipo III del co-transportador sodio-fósforo tipo 1 (PiT-1) y tipo 2 (PiT-2). El primero promueve la mineralización de la matriz mientras que el segundo la inhibe, siendo ambos estimulados por el fósforo. PiT-1 en un medio rico en fósforo (como en la ERC) produce la sobreexpresión de RUNX2 y la inhibición de los genes inherentes a la estirpe celular de las CML, la génesis de estructuras vesiculares de depósito de fosfato cálcico y la apoptosis^{32,52} (Ver figura 2). Aun se encuentra en investigación los mecanismos por los que el otro co-transportador (PiT-2) inhibe la calcificación⁵².

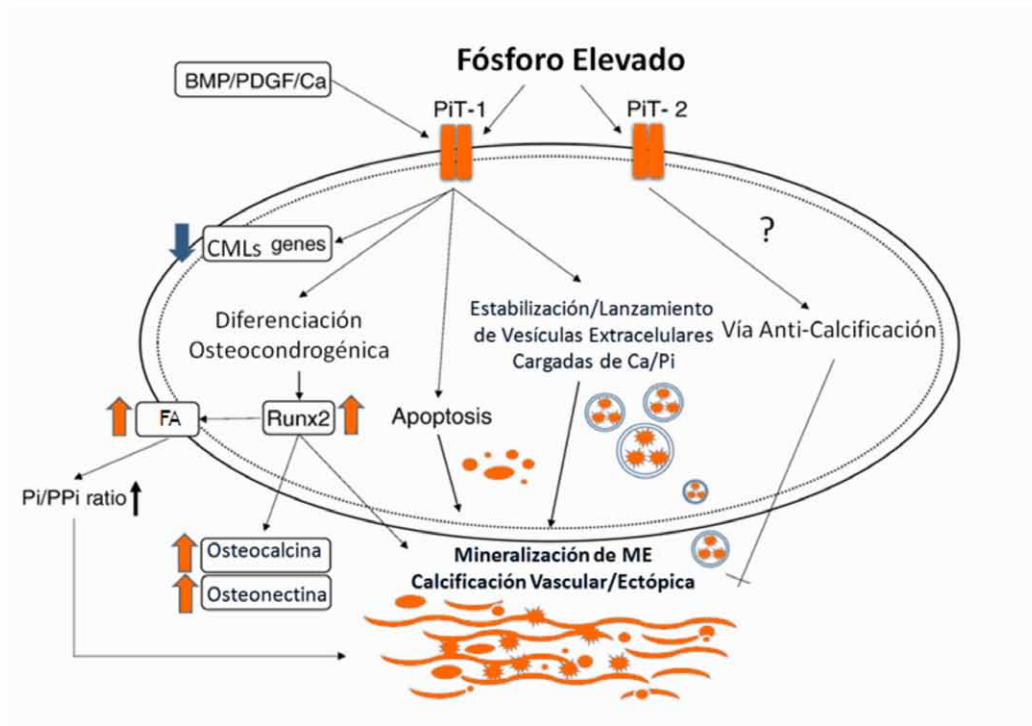


Ilustración 3. Mecanismos de Acción del Fósforo en la Des-diferenciación de la Célula del Músculo Liso Vascular(modificado de Yamada y cols)⁵².

BMP: Proteína Morfogénica Ósea; PDGF: Factores de Crecimiento Plaquetario; Ca: Calcio; Pi: Fósforo; PPi: Pirofosfato inorgánico; ME: Matriz Extracelular; CMLs: Células de Músculo Liso Vasculares; FA: Fosfatasa Alcalina.

Ya en estudios “in vitro”, la presencia de BMP-2 favorece sobreexpresión de PiT-1 produciendo un aumento de secreción de fósforo que unido al calcio forma la calcificación en la pared celular lo que potencia el proceso³².

2.4. Métodos Diagnósticos de la Calcificación Vascular.

2.4.1. Índice Tobillo-Brazo.

El ITB es una forma de detección precoz de patología vascular periférica que se encuentra ampliamente extendida en la práctica clínica diaria, resultado del cociente entre la presión arte-

rial sistólica detectada mediante doppler arterial tras medida mediante esfigmomanómetro del tobillo y de la zona braquial.

En condiciones normales un índice inferior a 0.9 expresa la presencia de patología arterial periférica, que será de mayor gravedad cuanto menor sea el índice (caída del flujo arterial en miembros inferiores). Por el contrario, en la CV lo que tenemos es aumento de la presión arterial en sístole a nivel periférico debido a la rigidez vascular⁵³. Esto hace que en presencia de ITB superiores a 1.1 podamos sospechar la presencia de calcificación. Más concretamente se estadian en afectación inicial, intermedia o tardía según el ITB esté entre 1.1-1.3 o 1.3-1.5 o bien mayor de 1.5 respectivamente⁵⁴.

Sin embargo, la principal limitación de este método es la presencia coincidente con la enfermedad arterial periférica que ocasiona falsos negativos, por lo que principalmente se usan las pruebas de imagen para el diagnóstico.

2.4.2. Radiología Convencional.

El depósito de calcio a nivel vascular es posible detectarlo mediante la radiología convencional. Para ello se han postulado varios índices en algunas zonas que relacionan la intensidad de dicho depósito con el aumento del riesgo de eventos cardiovasculares.

Entre ellos destaca el Índice de Kauppila⁵⁵. En este se mide sobre una radiografía de perfil de abdomen que debe incluir las dos últimas vértebras torácicas y las dos primeras sacras. La arteria aorta debe ser identificada como una estructura tubular por delante de la cara anterior de la columna.

Sólo se considera el segmento de la aorta desde la primera a la cuarta vértebra lumbar. Asignaríamos una puntuación de 1 a 3 (de leve a grave) según la gravedad de la calcificación por la cara anterior y la posterior de cada vértebra. Tomando 4 vértebras (de L1 a L4) y teniendo cada una de ellas dos caras valorables de una puntuación de 1 a 3, las puntuaciones totales van a oscilar entre 0 y 24. Tiene buena correlación con el RCV de los pacientes en la población general y con ERC^{56,57}.

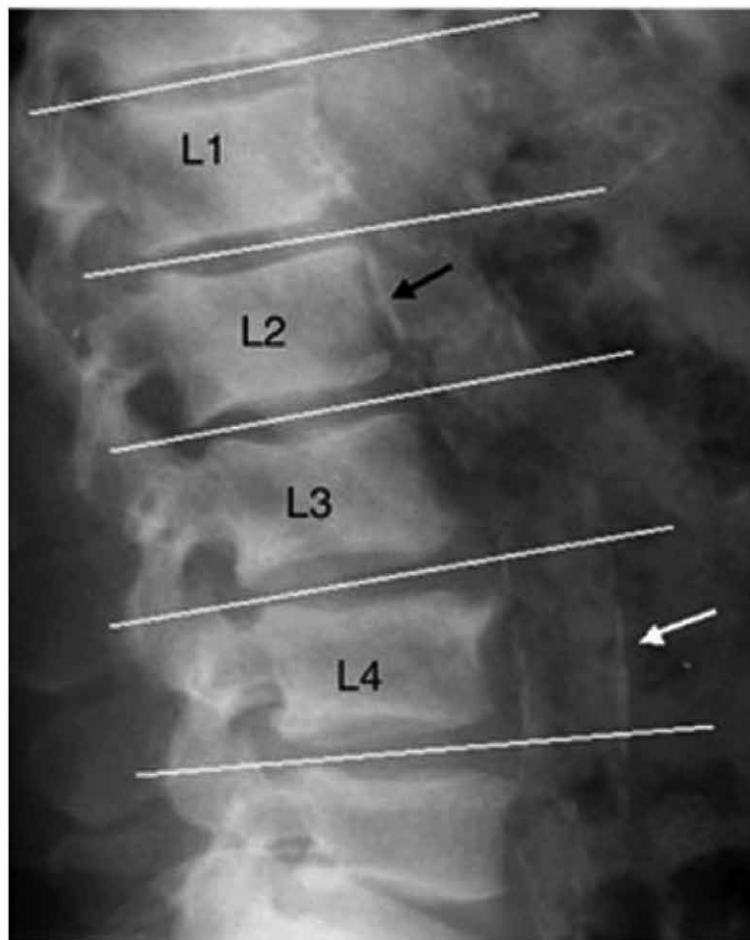


Ilustración 4. Cálculo del Índice Kauppila (modificado de Bellasi y cols)⁵⁸.

Otro de ellos es el Índice de Adragao⁵⁹. Se hace con radiografías de manos y pelvis, ambas se dividen en 4 cuadrantes. Se otorga un punto por cada cuadrante de las 4 zonas que radiografiamos por lo que el score va de 0 a 16. Este score es predictor de morbimortalidad de origen cardiovascular.

Ambos métodos son útiles para la detección de la CV y su correlación con la morbimortalidad vascular, pero al basarse en la radiología convencional detectan procesos más avanzados que la técnica por excelencia para detectar la calcificación, la Tomografía.

2.4.3. Imagen Vascular por Ultrasonidos.

En los estudios mediante ultrasonidos es posible en Modo B observar vasos arteriales superficiales, identificando la placa de ateroma así como la presencia de CV. El primer estudio que se publicó en relación a este tipo de método fue en 1986⁶⁰ que describió el grosor de la íntima

y la capa media de la arteria carótida (Grosor Íntima/Media) como una forma de diagnóstico no invasivo de la arterioesclerosis. Desde entonces los estudios ecográficos han ido evolucionando permitiéndonos extenderlos a la detección de CV mediante técnicas relativamente baratas y no invasivas⁴⁸, pasando por estudios intravasculares de la calcificación logrando diferenciar si ésta era de origen íntimal o media, y por último proponiendo escores de calcio en arteria carótida, aorta y de miembros inferiores (siglas en inglés CALC score)⁶¹.

Sin embargo, aunque sean no invasivos y de “bajo coste” tienen el principal problema en la subjetividad del radiólogo que realiza la prueba ecográfica, como siempre sucede con esta técnica aplicada a cualquier estudio.

2.4.4. Tomografía Computerizada (TC).

El uso de la TC para la detección de la calcificación vascular se remonta a los inicios de estudios radiológicos con esta técnica. Se han usado dos técnicas de obtención de imagen para este tipo de estudios: la tomografía computarizada por haz de electrones (TCHE) y la tomografía computerizada multi-corte (TCMC)⁴⁷. Sin embargo, no sería hasta el estudio de 1990 por Agatston y cols⁶² donde se establecería un método cuantitativo estandarizado para medir la calcificación en el árbol coronario que sería usado posteriormente en múltiples estudios que relacionarían las puntuaciones de dicho “Calcio Score” con el riesgo de morbilidad cardiovascular^{38,39,41,43}. De esta forma, el CSC ha terminado siendo el referente como método diagnóstico de la CV en el plano internacional, teniendo como principales pegajos el coste, la radiación que reciben los pacientes y la complejidad técnica.

Otros estudios han tratado de usar otros territorios vasculares para obtener otros “Calcio Score” mediante esta técnica, ya que el problema principal que presenta el CSC es la necesidad de uso de contraste yodado y/o de fármacos cronotrópicos negativos para disminuir la frecuencia cardíaca y poder hacer el estudio^{62,63}.

Los dos territorios más usados han sido la aorta abdominal^{40,63} y la arteria carótida⁶⁴. En ambos se han obtenido un “Calcio Score” que nos permiten estratificar el riesgo cardiovascular en función de la CV que presente el sujeto. En estos casos se aplica la misma metodología descrita por Agatston para el territorio coronario.

Lógicamente en el territorio de la aorta abdominal, el CSAA, las puntuaciones serán más

elevadas que en el coronario debido a que medimos un territorio más extenso.

2.4.5. Otras Técnicas Diagnósticas.

La Resonancia Magnética no se ha usado extensamente debido a un problema de fiabilidad a la hora de evaluar la imagen. Esto es debido a que el tiempo-eco del ión calcio al someterlo a resonancia es muy corto. Por ello es más usada la RM para estudio de tejidos blandos y no el tejido óseo o la CV⁶⁵.

Por el contrario, el estudio vascular mediante técnicas como la tomografía de emisión de positrones (PET) al tiempo que se usa la TC, permite combinar la imagen de depósito de calcio obtenida mediante el TC con el estudio funcional de la inflamación a nivel de la placa aterosclerótica o del espesor de la pared del vaso⁶⁶, aunque de momento es una técnica que está en proceso de expansión.

2.5. Riesgo Cardiovascular y Calcificación Vascular.

2.5.1. Fisiopatología.

El árbol vascular arterial tiene unas propiedades inherentes a su estructura que son la distensibilidad y la elasticidad de los vasos. En el primer caso es la capacidad que tiene el vaso de aumentar su diámetro para que cuando llega el volumen de flujo sistólico la presión no se eleve en exceso. Por el contrario la elasticidad, entendida como capacidad para volver a recuperar la forma de un objeto tras sufrir una fuerza deformante, permite que en diástole se reduzca el radio del vaso para mantener estable la presión arterial en dicha fase⁴⁸.

La principal consecuencia directa de la CV es el aumento de la rigidez del vaso con la pérdida progresiva de ambas propiedades. En primer lugar, al perderse la distensibilidad se traduce en un aumento de la velocidad de onda de pulso, debido a que en sístole no aumenta el diámetro del vaso, con lo que el flujo sanguíneo se acelera (la velocidad de flujo es inversamente proporcional al cuadrado del radio del vaso según la ley de Poiseuille⁶⁷) aumentando este parámetro. Pero ésta disminución del diámetro origina un aumento de la resistencia a la salida del flujo cardiaco, es de-

cir, un aumento de la poscarga con el consecuente futuro desarrollo de HVI, disfunción diastólica y finalmente IC con fracción de eyección conservada^{68,69}.

Por otro lado, la pérdida de la elasticidad origina, en estadios avanzados, un empeoramiento del riego periférico debido a que en fase diastólica se produce una caída muy brusca de la presión en el vaso favoreciendo la estasis, aparición de trombosis y fenómenos isquémicos aunque el mecanismo mediante el cual estos fenómenos ocurren está menos estudiado que el problema anterior. Además de la teoría de caída de la velocidad de flujo con estasis y trombosis, existen otras que tratan de explicar los fenómenos isquémicos encontrados.

La primera teoría defendería que la calcificación de la media dificulta el remodelado vascular en pacientes con aterosclerosis, incapacitando la adaptación a cambios hemodinámicos que surgen con la edad o como consecuencia de diferentes noxas. La segunda defendería que en los estadios finales de la calcificación de la media se produce una invasión de la íntima con el consecuente aumento de episodios trombo-isquémicos. Y por último, la tercera que la propia calcificación origina problemas mecánicos como consecuencia de oscilaciones en la perfusión de los tejidos periféricos al elevarse y caer bruscamente la presión de perfusión⁴⁸.

2.5.2. Calcio Score y Riesgo Vascular en la Población general

La CV, pues, está íntimamente relacionada con el RCV, pero ¿cómo medimos esa calcificación con idea de que nos pueda ser de utilidad a la hora de predecir el riesgo de aquellos pacientes que no han debutado con la enfermedad cardiovascular?

En apartados anteriores hemos descrito varios métodos de cuantificación de dicha calcificación. Sin embargo, de todos ellos, es el Calcio Score determinado mediante tomografía el que más ampliamente se ha estudiado, siendo el territorio coronario el que más evidencias acumula.

Así, en el metanálisis realizado por Pletcher y cols⁵ revisa la literatura hasta el momento y finalmente se queda con 4 grandes estudios donde se realiza el CSC con un total de 13000 pacientes. Distribuye a los sujetos en 3 grupos, CSC 1-100 (grupo 1), CSC entre 101-400 (grupo 2) y CSC >400 (grupo 3) comparándolos con los sujetos de CSC=0. El riesgo relativo observado de evento

coronario, ajustado por factores de riesgo establecidos, fue de 2.1 en el grupo 1, de 4.2 en el grupo 2 y de 7.2 en el grupo 3.

En el caso del Calcio Score a nivel de la aorta abdominal CSAA, diferentes estudios han observado una buena correlación entre éste y el CSC. El más extenso de ellos ha sido el estudio de Chuang y cols⁷⁰ donde reclutaron a una población de 3285 participantes con rango de edad entre los 40 a 60 años con presencia de factores de RCV y un grupo control de 1656 libres de riesgo teórico. A ambos grupos se les realizó el CSC y el CSAA.

Se encontró que el CSAA se correlacionaba de forma significativa con el CSC, y la fuerza de esta asociación fue similar en ambos sexos. Pero además el CSAA está fuertemente asociado con riesgo de accidente cerebrovascular isquémico, claudicación, enfermedad Coronaria y Enfermedad Cardiovascular total^{70,71}.

2.5.3. Calcio Score y Riesgo Vascular en la Enfermedad Renal Crónica.

Si nos centramos en los pacientes renales, la presencia de la CV es mayor respecto a la población general. Esto podemos observarlo en el estudio de Roy y cols⁷² donde seleccionaron una población de 544 pacientes a los que se les realizó un CSC. Los dividieron por la tasa de FG en 3 grupos, grupo 1 (FG > 90 ml/min/1.73 m²), grupo 2 (FG de 60-90 ml/min/1.73 m²) y grupo 3 (FG de 30-60 ml/min/1.73 m²).

Se apreció que el CSC medio fue de 58 en el grupo 1, 151 en el grupo 2 y 606 en el grupo 3. Esto se tradujo tras ajustar por otras variables de RCV en un riesgo relativo de tener 2.2 veces peor CSC del grupo 2 frente al grupo 1 y de 6.4 veces del grupo 3 respecto del primer grupo. Esto evidencia un aumento del riesgo muy elevado en la ERC como ya sabíamos y que nos predice el CSC, aunque recientes estudios cuestionan dicha relación principalmente en pacientes con ERC avanzada o en terapia renal sustitutiva (diálisis o trasplante)^{73,74}. Sin embargo, no parece que en estadios menos avanzados (3-4) dicha relación pierda significación⁷⁵.

El número de estudios que comparan el CSAA con el CSC es mucho menor en pacientes con ERC. No obstante en el estudio de Pencak y cols⁷⁶ seleccionaron una población de 104 pacientes en hemodiálisis junto con un grupo control de 14 sujetos a los que les hicieron el CSC y

el CSAA. Encontraron que los pacientes en hemodiálisis tenían valores superiores a los controles, tanto en el caso del CSAA como en el CSC. Y que por debajo de la 4ª década de la vida no había prácticamente calcificación.

El principal problema del estudio es que no considera los grados de CSC y no los compara con los grados de CSAA, sino que se centra sólo en $CSC > 0$ y $CSAA > 0$. Hubiera sido interesante ya que el riesgo vascular de los pacientes con CSC está en función de dicha puntuación más que en que ésta esté presente o no⁵.

Otras publicaciones han tratado de realizar comparaciones entre la calcificación de la aorta abdominal en el paciente renal y el riesgo cardiovascular^{55,77}. La mayoría de ellas usan el Índice Kauppila descrito previamente⁵⁶. Sin embargo en diferentes estudios ha sido probado que las técnicas usadas para medir mediante Tomografía computarizada son más sensibles que la radiografía simple^{76,78}. Comparando dichos estudios podemos observar que en el caso concreto del estudio de Cecelja y cols⁷⁸ de 105 sujetos, la tasa de detección de calcificación de la aorta abdominal mediante Radiografía simple fue del 49% frente al 81% de la Tomografía. El problema, como decíamos anteriormente, es el coste económico y la radiación.

Pero la idea de nuestro estudio es el diagnóstico precoz de la CV mediante técnicas que no precisen radiaciones ionizantes sino test de laboratorio y para ello debemos compararlas con la técnica más sensible posible para la detección de dicha CV, decantándonos por la zona de la aorta abdominal por su sencillez metodológica.

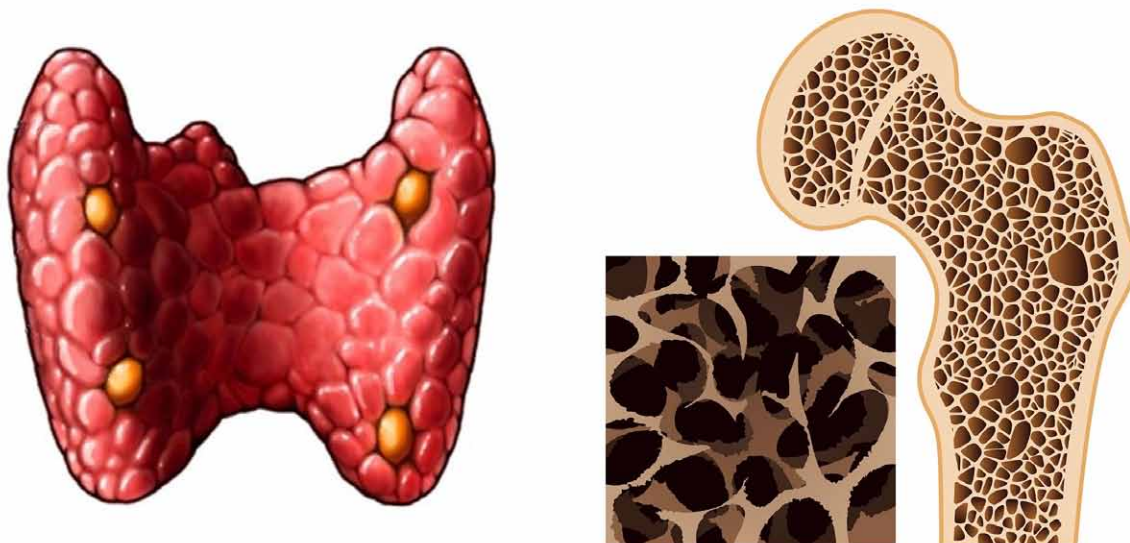
A la hora de elegir la forma de medir el grado de calcificación de la aorta abdominal mediante tomografía contemplamos dos sistemas principalmente. Trasladar el sistema descrito por Agatston y cols⁶² a nivel abdominal^{40,63,70} o bien usar un índice semicuantitativo de calcificación aórtica descrito por los autores Kabaya T, Kimura K, y cols^{79,80}. Ambos métodos se han usado en pacientes con ERC^{81,82} demostrando ambos correlación entre los SCAA y el RCV. Y ambos además tienen estudios comparativos con el método gold-estándar que es el CSC^{63,83} que relacionan la puntuación del CSC con la cada uno de los dos métodos.

En el caso del estudio de An y Cols⁶³ sitúa en 1025.8 el punto de corte del SCAA para un CSC superior a 100, es decir, para un aumento del riesgo relativo de 2.1 de evento coronario⁵. Con el Índice de Calcificación aórtica (ICA) descrito por Kabaya sitúa en el 16.5% el dintel a partir del cual podemos considerar un $CSC > 400$ ⁸³ lo que equivale a un riesgo relativo de evento coronario de 7.25. Sin embargo, finalmente nos decidimos por el método cuantitativo de Agatston para aorta

abdominal descrito por An y Cols⁶³ debido a que es más usado en la literatura que el ICA, depende menos de la subjetividad del radiólogo investigador y porque es capaz de relacionarse con CSC más bajos que el ICA que esperamos encontrar en una población como la nuestra con ERC estadio 3 (los autores que usan el ICA lo aplican mayoritariamente a población en diálisis con mayores grados de calcificación que poblaciones con un estadio más bajo).







3. EL METABOLISMO ÓSEO-MINERAL EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

3.1. Nociones Generales.

La morbimortalidad cardiovascular en el paciente con ERC está aumentada con respecto a la población general como ya hemos visto¹. Aunque los pacientes con ERC tienen mayor prevalencia de factores de RCV clásicos, éstos por sí solos no explican esta mayor incidencia. En esta población, además de estos factores, se dan una serie de procesos y factores de RCV no clásicos que llevan a que el riesgo aumente y a que la ERC progrese²⁶, puesto que la propia ERC y su progresión influyen en este aumento¹⁷.

La CV es uno de esos factores y, como hemos visto, tiene una prevalencia más elevada en la ERC con respecto a la población general^{6,72}. En anteriores capítulos hemos hablado de los mecanismos que llevan a que se produzca dicha CV en la población general y en los pacientes renales en particular. En estos pacientes, en concreto, el desbalance del metabolismo fosfo-cálcico juega un papel fundamental en la génesis de la CV⁴⁸. Porque la relación entre el fósforo y la morbimortalidad cardiovascular en general^{84,85} o la CV en particular⁸⁶ en el paciente renal está más que estudiada. Y esta relación, del fósforo con la CV, incluso se está observando en pacientes sin ERC y con niveles supuestamente “normales” de fósforo plasmático⁸⁷ así como en los pacientes renales.

Es determinante, por tanto, el detectar cuanto antes a aquellos pacientes susceptibles de

complicarse con la CV aunque no lleguen a tener niveles de fósforo fuera de rango según las guías terapéuticas actuales⁸⁸.

Trataremos a partir de éste capítulo de centrarnos en la regulación del metabolismo del calcio y del fósforo en el sujeto sano, las alteraciones que luego se producen en el paciente renal y cómo éstas determinan la aparición y/o progresión de la CV en la ERC; y por último los medios que tenemos para la detección de los mismos y las armas terapéuticas que obran a nuestra disposición.

3.2. Regulación Hormonal del Metabolismo Óseo-Mineral en el sujeto sano.

Clásicamente la regulación de los niveles séricos de calcio y fósforo se ha atribuido al equilibrio autorregulado de dos hormonas: el metabolito activo de la vitamina D (Calcitriol) y la PTH. Ambas regulaban la reabsorción intestinal, la movilización ósea y la excreción renal de ambos iones. Concretamente el calcitriol, activado a nivel renal, influía a nivel intestinal favoreciendo la absorción de calcio y fósforo de la dieta, y en el hueso movilizando ambos iones. Por el contrario la PTH, secretada por las paratiroides, se estimulaba ante la hipocalcemia promoviendo la activación de los osteoclastos y la resorción ósea, y a nivel renal aumentando la producción de calcitriol que por retroalimentación negativa impedía una sobreexpresión de dicha PTH. Además se conocía el efecto fosfatúrico de la PTH a nivel renal mediante una disminución de la reabsorción en el túbulo proximal⁸⁹.

Sin embargo a esta regulación clásica se han añadido en los últimos años otros actores entre los que destaca el FGF-23 y la proteína transmembrana Klotho. El FGF-23 es una proteína de 251 aminoácidos producida principalmente en el hueso, tanto por los osteoblastos como por los osteocitos^{90,91}, y actúa como regulador de los niveles séricos de fósforo y del calcitriol a nivel renal al unirse a su receptor específico FGFR-1. Pero el FGF-23 tiene baja afinidad a su receptor y precisa de una proteína transmembrana presente en toda la economía, pero principalmente en el riñón que es el Klotho⁹².

Cuando se forma el complejo y se activa el FGFR-1, se produce una inhibición en la síntesis del calcitriol, disminuyendo la reabsorción intestinal de fósforo y calcio, y de los cotransportadores sodio-fósforo tipo IIa en el túbulo proximal encargado de la reabsorción de fósforo, permitiendo una mayor eliminación de fósforo. El FGF-23, por tanto, aumentará su síntesis en presencia de

hiperfosforemia para mantener niveles normales de fósforo. Pero no sólo actúa a nivel del túbulo proximal, sino que a nivel distal parece que favorece la sobreexpresión del Receptor de Potencial Transitorio V5 (TRPV5) que es un canal de calcio que aumenta la reabsorción de dicho ión⁹³.

Al mismo tiempo ese descenso en la producción de calcitriol estimula la producción de PTH que terminará activando los osteoclastos y liberando calcio permitiendo mantener niveles normales de calcemia.

3.3. La Disregulación del Metabolismo Óseo-Mineral en la ERC.

En la ERC se produce por definición un descenso en el filtrado glomerular. Este descenso conlleva una disminución en la tasa de excreción de multitud de sustancias, entre las cuales se encuentra el fósforo.

La ingesta media de fósforo de un adulto es de 1240 mg/día, de la que se absorbe un 60% a nivel intestinal, lo que supone una media de 775 mg/día, que en condiciones normales acaba siendo una cifra similar al excedente diario para mantener los niveles de fósforo plasmático dentro de la normalidad.

El encargado de eliminar el excedente es el riñón en exclusiva, y el descenso del filtrado acarrea una disminución en su eliminación⁹⁴. Pero como veíamos en apartados anteriores el fósforo es una de las principales moléculas que favorecen la CV y con ello el aumento de RCV^{32,48}, con lo que se van a poner en marcha una serie de mecanismos para intentar prevenir dicha elevación.

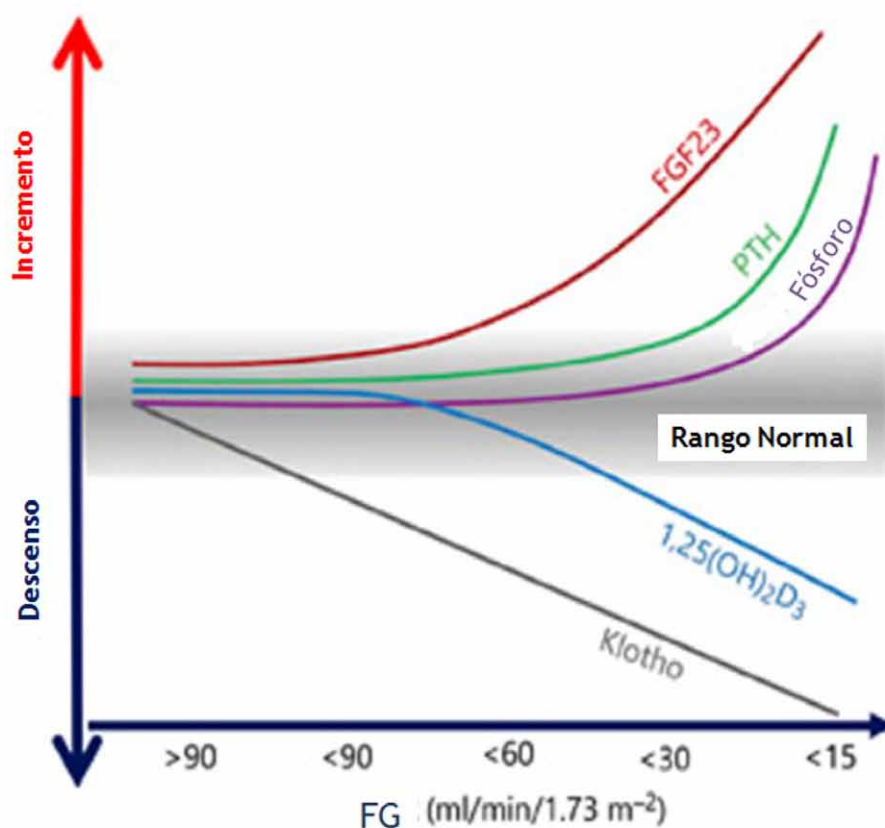
La pérdida de función renal lleva inherente un descenso en la expresión de la proteína Klotho, aunque nosotros más concretamente medimos α -Klotho ya que Klotho tiene una porción intramembrana que no pasa a torrente sanguíneo⁹⁵, siendo la principal fuente plasmática el tejido renal⁹⁶. Éste descenso tiene una relación inversamente proporcional al ascenso de la creatinina, los productos nitrogenados y a FGF-23.

La principal hipótesis actualmente aceptada es que el descenso de Klotho a nivel renal conlleva un descenso en la afinidad de FGF-23 por su receptor, por lo que para mantener la fosfatemia y que no aumente la fosfatemia se produce una elevación en los niveles séricos de FGF-23 siendo

las sustancias que más precozmente se alteran en la regulación del metabolismo óseo-mineral⁹².

Este mecanismo inicial es una respuesta adaptativa y conlleva un incremento resultante en la EFPi que puede mantener los niveles de fósforo en rango aceptable incluso en estadios relativamente avanzados (grado 3-4) de la ERC⁹⁷.

Gráfico 3. Cambios en los parámetros de los principales metabolitos de la Disregulación del Metabolismo Óseo-Mineral en relación a la progresión de la Enfermedad Renal Crónica (modificado de Nitta y cols⁹²)



Pero al progresar la ERC, los mecanismos adaptativos comienzan a fracasar y el calcitriol comienza a descender inhibida por la acción de FGF-23 al tiempo que la PTH asciende, tanto por el descenso del calcitriol y del calcio, que son sus inhibidores naturales y se encuentran en descenso, como por los niveles tendentes al alza del fósforo dado que la PTH per sé tiene acción fosfatúrica⁹³.

3.4. La Disregulación del Metabolismo Óseo-Mineral y la Calcificación Vascular en la ERC.

Las alteraciones que hemos visto en la DMOM van a determinar una serie de complicaciones en el enfermo renal, que principalmente se van a desarrollar en el hueso y en el árbol vascular.

A nivel óseo tanto el ascenso de la PTH (hiperparatiroidismo secundario) como el descenso del calcitriol van a ocasionar un aumento de la resorción ósea con disminución de la mineralización de la cortical y la trabécula ósea. Debido a esto el riesgo de fracturas en la ERC es entre 2 a 14 veces mayor que la población general⁹⁸.

A nivel vascular, ya conocemos que el fracaso en la regulación del fósforo, el calcio, la PTH y el calcitriol va a ocasionar CV en la ERC^{85,99}. Pero otras sustancias como el FGF-23 y α -Klotho, de más reciente aparición, están mostrándose como actores más precoces en la posible aparición de esta CV^{52,92}. Como mecanismo más obvio está la relación de ambas sustancias en su acción en el túbulo renal favoreciendo la fosfaturia⁹³. Por este motivo, una de las primeras consecuencias en la DMOM en el enfermo renal es el ascenso de la EFPi¹⁰⁰.

Con la progresión de la ERC, FGF-23 se eleva y α -Klotho desciende^{89,95}. El descenso del segundo estaría causado por la caída del FG y la respuesta del organismo para mantener la fosfaturia sería elevar FGF-23 dada la menor afinidad hacia su receptor por la disminución de α -Klotho. Si la situación se deteriora es la PTH la que entra en acción como segunda hormona fosfatúrica como hemos explicado anteriormente⁹³.

El posible efecto directo de estas dos sustancias en la CV en la población renal sin mediación del fósforo es lo que a continuación trataremos.

3.4.1. FGF-23 y Calcificación Vascular.

La relación entre el FGF-23 y la ERC, así como su correlación con las anomalías del metabolismo óseo-mineral están bien establecidas¹⁰⁰. Al mismo tiempo se ha encontrado una fuerte relación entre la presencia de niveles elevados de FGF-23 y la presencia de HVI¹⁰¹ aislándose la presencia de receptores a nivel cardiaco que pueden ser potenciales dianas de futuros fármacos^{102,103}.

Sin embargo el posible efecto directo en la génesis de la CV no está resuelto y aún queda

la cuestión principal de si FGF-23 promueve o inhibe la matriz de calcificación en las células vasculares. En el artículo de Scialla y cols publicado en 2013¹⁰⁴ con una cohorte de 1501 pacientes establecen que no hay relación entre los niveles séricos de FGF-23 y la calcificación coronaria, aunque esta relación sí se daba con los niveles elevados de fósforo en plasma. Además en el mismo artículo describen la ausencia de ARNm de FGF-23 en CML humanas o de ratón de tejido sano o de vasos calcificados, ni tampoco de Klotho. Así mismo añadir FGF-23 a CML humanas cultivadas in vitro tampoco indujo la calcificación. En otro artículo por Zhu y cols del mismo año¹⁰⁵ aprecian incluso un papel protector frente a la CV actuando a nivel de las CML. Por el contrario en otro artículo de Jimbo y cols publicado un año después¹⁰⁶ observaron que al tomar tejido aórtico de ratas apreciaron la presencia de FGFR-1 y Klotho pero no en las CML. Sin embargo al exponer tejido aórtico de ratas urémicas a FGF-23 se producía una CV fósforo-dependiente que aumentaba en aquellas CML que sobreexpresaban α -Klotho frente a las que no.

Se precisan más estudios que puedan dilucidar el papel de FGF-23 en la génesis de calcificación de las CML y si ese papel será α -Klotho dependiente o no en la CV de los pacientes renales. Aunque su relación con la enfermedad cardiovascular si esté bien establecida.

3.4.2. α - Klotho y Calcificación Vascular.

La proteína y el gen Klotho fueron descritos por primera vez en 1997 por Kuro-o y cols¹⁰⁷ como parte de la regulación de la longevidad en el ratón. El déficit de α -Klotho (parte soluble medible del Klotho renal) en estos ratones produce niveles elevados de fósforo y calcitriol, y CV en la capa media, hallazgos similares a los encontrados en otro estudio de Shimada y cols¹⁰⁸ donde seleccionaron a ratones con ablación de FGF-23. Por tanto ambas sustancias participan en la homeostasis del fósforo y en la CV tanto en ratones como en humanos, y la molécula en concreto de α -Klotho desciende en relación a la progresión de la ERC¹⁰⁹, con lo que podemos pensar que la DMOM y la CV en la ERC está influida por esta proteína.

La proteína Klotho puede encontrarse como proteína de membrana siendo determinante en facilitar la unión de FGF-23 con su receptor, pero luego el dominio extracelular que puede escindirse de la membrana aislándose soluble en plasma puede ejercer acción a distancia en el transporte iónico y en la acción de los factores de crecimiento¹¹⁰. Principalmente es producida por el riñón, aunque también por la paratiroides y en plexo coroideo, lo que explica su relación con el grado de función renal⁹⁶.

Su presencia directa o no en el tejido vascular calcificado es controvertida porque existen gran cantidad de estudios en contra^{104,111} y a favor^{105,106}.

Sin embargo Hu y Cols en 2011¹⁰⁹ demostraron que el déficit de α -Klotho se relacionaba con la CV en ratones con ERC y que la forma soluble de α -Klotho podía suprimir el co-transportador PiT-1 y PiT-2, así como la activación del gen RUNX2 que son determinantes en la transformación de la CML del vaso en célula de estirpe osteocondrogénica. Pero no sólo la forma soluble influye en la CV, sino que en el estudio de Zhao y Cols en 2015¹¹² proponen que la inhibición de la señal de mTOR, que se manifiesta en la aorta de los ratones con ERC, disminuye la CV teniendo una relación directa con una elevación en la expresión de α -Klotho en la membrana, ya que en ratones " α -Klotho knockout" este beneficio no se expresaba.

Por tanto, parece plausible que tanto la forma soluble de α -Klotho como la intramembranosa puedan jugar un papel importante en el mecanismo de la CV en el enfermo renal.

3.5. El Tratamiento recomendado por consenso de la DMOM.

El pilar fundamental en el tratamiento de la DMOM va dirigido al fósforo como principal objetivo a controlar dadas sus implicaciones directas sobre la CV en primer termino y consecuentemente con el RCV de los pacientes con ERC¹¹³.

3.5.1. El Fósforo.

En todos los estadios de ERC (del 1 al 5) el fósforo deberá mantenerse entre 2.7 mg/dL y 4.6 mg/dL, y para ello recurriremos a 3 medidas principalmente⁷:

- Restricción dietética de alimentos ricos en fósforo, más intensa a mayor estadio de la enfermedad.*
- Uso de quelantes cálcicos (siempre que tengamos niveles adecuados de calcio plasmático por debajo de 10.2 mg/dL), y evitando dar más de 1.5 gr/día de calcio elemento.*
- Uso de quelantes no-cálcicos, más potentes y que suelen usarse en los estadios más avanzados.*

3.5.2. La Vitamina D.

El déficit de vitamina D en su forma 25(OH) Calcidiol favorece la aparición hiperparatiroidismo secundario⁸⁹ y aumenta el RCV y de mortalidad por cualquier causa¹¹⁴. Por este motivo en la ERC se debe evitar el déficit de esta vitamina suplementándola para mantenerla por encima de 20 ng/mL en plasma⁷.

3.5.3. La Parathormona.

Los objetivos analíticos para el control de esta hormona van a variar en función del estadio de la ERC, puesto que aunque la función que desempeña es estimular a lo que queda funcionando a nivel renal a eliminar fósforo, una excesiva elevación ocasiona repercusiones principalmente en el hueso¹¹⁵, al igual que una excesiva corrección.

Por tanto los niveles objetivo van a variar en función del estadio del paciente⁷.

Tabla 6. Niveles de PTH según grado de ERC (modificado de KDIGO 2012⁷).

Estadio ERC	Niveles PTHi (ng/mL)
3	35-70
4	70-110
5	150-300

Para el control de la PTH cuando no sea suficiente con unos niveles óptimos de fósforo plasmático y de 25(OH) Calcidiol recurriremos a la vitamina D activa (Calcitriol), Alfalcidol (1-(OH)-Calcidiol) y el Paricalcitol.

Todas estas moléculas pueden usarse en el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario estimulando el receptor de vitamina D de la glándula paratiroidea con el fin de disminuir la producción de PTH^{7,116}. En concreto, la molécula Paricalcitol ha presentado varios estudios que avalan que además de reducir el hiperparatiroidismo, mejora la supervivencia de los pacientes con ERC antes y en terapia renal sustitutiva y reduce la CV entre otros beneficios¹¹⁷.

Existe la opción del uso de calciomiméticos (Cinacalcet) para el control del hiperparatiroidismo terciario que cursa con hipercalcemia o un hiperparatiroidismo secundario muy avanzado en el caso de fracaso de los derivados de la vitamina D¹¹⁸.

Por último, la opción quirúrgica en el tratamiento de la glándula paratiroidea puede ser la única solución cuando el farmacológico fracasa para el control de la PTH¹¹⁶.

3.6. Opciones de Tratamiento más allá de las Guías para la DMOM.

A día de hoy se recomienda para el seguimiento y control de la DMOM el uso de determinaciones analíticas de Calcio, Fósforo y PTHi plasmáticos, y en técnicas de imagen la Rx simple lateral de abdomen para calcular el Índice Kauppila y la Densitometría ósea para valorar la enfermedad ósea¹¹⁶.

Con estas medidas no estamos evitando la alta incidencia de CV en los pacientes renales a pesar de aplicar adecuadamente el consenso actual. Esto abre la opción de determinar si es necesario un diagnóstico más precoz de la CV con objeto de iniciar tratamientos farmacológicos de los que disponemos con antelación en los sujetos especialmente sensibles, o bien investigar nuevas líneas terapéuticas⁵².

Esta segunda opción se centra principalmente en el adecuado control del fósforo y en actuar sobre las “nuevas” moléculas, FGF-23 y Klotho, de la DMOM.

3.6.1. Fósforo.

En la actualidad surgen dos opciones en este apartado:

- Tratamiento precoz con medidas dietéticas y quelantes del fósforo.
- Uso de otras moléculas en caso de fracaso de las actuales.

En el primer caso, la base sería usar las medidas ya conocidas en aquellos sujetos que con

los medios actuales de diagnóstico estamos llegando tarde en la detección de la CV. Nos basaríamos más en el diagnóstico precoz de aquellos sujetos más sensibles a la CV que con los medios actuales de detección se nos presentan esquivos. Entre estas opciones puede estar el uso de Tomografía para la detección más precoz de la CV o la determinación de FGF-23 o α -Klotho para ese diagnóstico. Pero son técnicas caras que a día de hoy se reservan para el nivel experimental.

El segundo caso sería el uso de otras moléculas como la Nicotinamida. Esta molécula actúa en el intestino inhibiendo el co-transportador Sodio-Fósforo IIb presente en las vellosidades intestinales del intestino delgado y principal actor en la absorción del fósforo de los alimentos. Un uso combinado con quelantes de fósforo podría mejorar los niveles diana con respecto al uso aislado de los quelantes aunque por el momento no se ha demostrado fehacientemente¹¹⁹. Actualmente existe un ensayo en curso (Ensayo COMBINE) más ambicioso que trata de observar no sólo el comportamiento del fósforo plasmático, sino los niveles de FGF-23, Hipertrofia Ventrículo izquierdo, fibrosis renal, etc¹²⁰.

3.6.2. FGF-23 y Klotho.

Sabemos que FGF-23 aunque se trate de una molécula que favorece la eliminación de fósforo por el riñón, su nivel elevado se relaciona con la HVI y la aparición posterior de complicaciones como la IC^{101,103}.

Con idea de prevenir este problema el principal intento de tratamiento teniendo como diana a esta molécula fue el realizado por Shalhoub y cols publicado en 2012¹²¹. En este estudio demostraron en el modelo animal que el uso de anticuerpos frente a FGF-23 mejoraba todos los parámetros de Hiperparatiroidismo secundario sin embargo aumentaba la mortalidad, probablemente debido a que el fósforo se elevaba y aumentaba la CV. Por lo que se abandonó esta línea.

Sin embargo, una forma de disminuirlo podría ser de forma indirecta, bien reduciendo el estímulo (Fósforo) o bien mejorando la respuesta renal a su presencia. La primera opción sería disminuir la carga de fósforo en la dieta con lo que descendería FGF-23¹²². La segunda sería aumentar la sensibilidad renal a FGF-23 y eso depende de la presencia de α -Klotho en el tejido renal.

Parece que aumentar α -Klotho en el tejido renal podría ser beneficioso en los pacientes con ERC pero a día de hoy no hay estudios en humanos que hayan probado ese potencial beneficio⁵². Existen estudios que han probado que estimulando los receptores de vitamina D a nivel renal podrían producir un aumento de la expresión de α -Klotho en el riñón, a nivel experimental en ratones, disminuyendo los niveles de FGF-23 y aumentando la fosfaturia por un probable aumento de la sensibilidad a FGF23¹²³, pero no existen en humanos.





II. JUSTIFICACIÓN

Fruto de un elevado producto calcio/fósforo, la prevalencia de la calcificación vascular en los pacientes con insuficiencia renal crónica es muy elevada, y se relaciona directamente con la morbi-mortalidad cardiovascular.

Las guías de práctica clínica tienen consagrado el empleo de quelantes del fósforo una vez que sus niveles séricos se han elevado; sin embargo, es posible que cuando se instaura este tratamiento, parte del proceso de calcificación haya tenido lugar. Por ello, sería deseable contar con biomarcadores que nos permitan identificar sujetos a los que instaurar el tratamiento de forma precoz.

En años recientes se está investigando el papel que juega el Eje Factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23)/Klotho en la regulación del metabolismo calcio-fósforo-vitamina D en los pacientes con insuficiencia renal, ya que ambas sustancias se alteran más precozmente que la PTH, y esos niveles alterados se han relacionado de forma independiente con la calcificación vascular y la mortalidad cardiovascular en pacientes con insuficiencia renal avanzada^{103 109,124,125}. En estadios precoces de insuficiencia renal la primera molécula que se altera es α -Klotho⁹², que comienza a descender, seguido de un ascenso progresivo de FGF-23 que parecen predecir la presencia de calcificación vascular^{108,109,126}, aunque los resultados no han sido unánimes¹⁰⁴.

Se conoce que el principal efecto a nivel renal del FGF-23 es su efecto fosfatúrico impidiendo el balance positivo de fósforo; es por esto que en estadios iniciales en pacientes respondedores a FGF-23, aumente la fosfaturia y disminuya el riesgo de calcificación vascular¹²⁷. Sin embargo esta acción es α -Klotho dependiente, ya que la sensibilidad de FGF-23 por su Receptor viene determinada por la presencia de esta molécula⁹². Por tanto es lógico pensar que es en la respuesta renal fosfatúrica donde podemos observar de forma precoz el desbalance del metabolismo calcio-fósforo en los pacientes con insuficiencia renal que se va a relacionar con el grado de calcificación vascular^{128,129}.

1. HIPÓTESIS.

Puesto que el factor primordial en el desarrollo de la calcificación vascular en la IRC es la elevación del producto calcio/fósforo sérico debido a la incapacidad renal para la excreción de éste último, es posible que una reducción en la excreción fraccional de fósforo esperada (un parámetro simple de cuantificar y de bajo coste) permitiera identificar de forma precoz a sujetos en riesgo de CV.

2. OBJETIVOS.

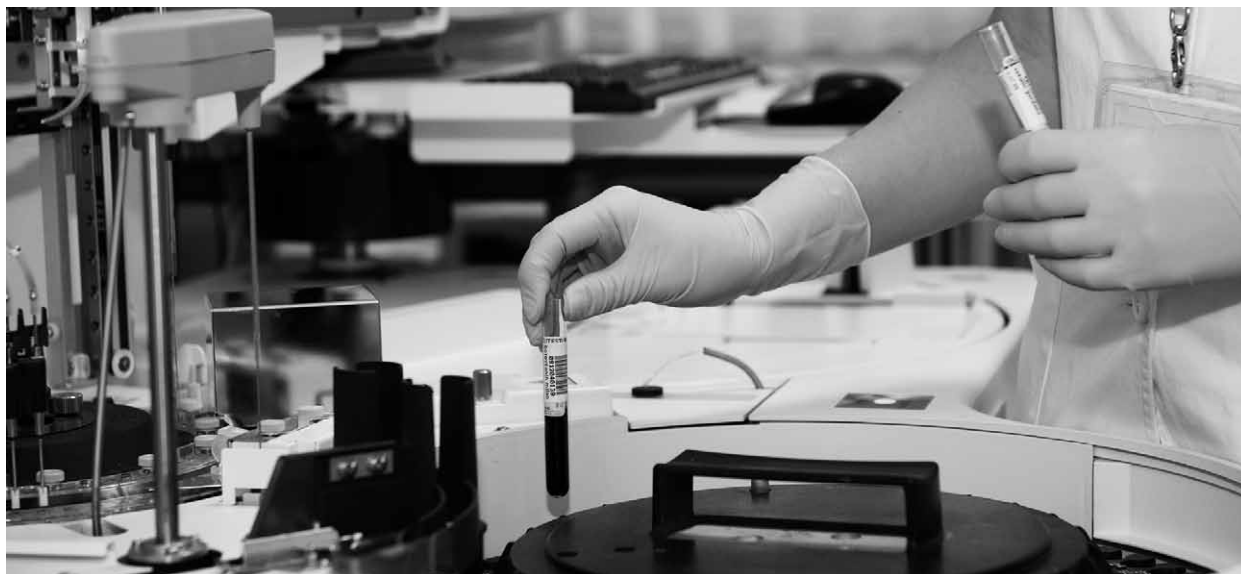
2.1. PRIMARIOS.

Cuantificar la Calcificación Vascular de la aorta abdominal y establecer si la tasa de eliminación de fósforo medido mediante la Excreción Fraccionada de Fósforo se relaciona con ella.

2.2. SECUNDARIOS.

1. Relacionar los niveles de α -Klotho con la calcificación vascular medida con objeto de saber si existe un punto que nos prediga la presencia o no de calcificación.
2. Determinar la prevalencia de pacientes con Índice Tobillo Brazo (ITB) alterado en pacientes con calcificación vascular.
3. Determinar niveles de PTH, calcio, fósforo y metabolitos de la vitamina D y cómo se relacionan con el grado de calcificación vascular de nuestros pacientes.





III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y PACIENTES.

1.1. Pacientes.

Se reclutaron a pacientes en seguimiento en la consulta externa de Nefrología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria (HUVV) con insuficiencia renal crónica grado 3 (Filtrado Glomerular entre 30-60 ml/min/1.73 m²) mediante cálculo del filtrado glomerular usando la ecuación CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)¹³⁰ según la analítica de laboratorio de nuestro hospital teniendo como referencia la de las últimas 2 revisiones en consulta.

Criterios de Inclusión: Pacientes con IRC con filtrado glomerular calculado por CKD-EPI entre 30-60 ml/min/1.73 m², de ambos sexos, con edad entre los 18 y los 70 años que firmaron el consentimiento informado.

Criterios de Exclusión: Embarazo. Diagnóstico de Hiperparatiroidismo primario o terciario. Neoplasia maligna activa. Niveles séricos de Calcio superiores a 10 mg/dl y/o de fósforo de 4.6 mg/dl. Consumo de corticoides durante un período superior a 6 meses¹³¹. Tratamiento con calcio superior a 500 mg de calcio elemento, calciomiméticos, o paricalcitol^{132,133}. Toma de quelantes no cálcicos¹³⁴.

1.2. Cálculo del Tamaño Muestral.

Para conseguir una potencia del 80% para detectar diferencias en el contraste de la hipótesis nula $H_0: p=38,00\%$ ⁴⁰ mediante una prueba Chi cuadrado bilateral para una muestra, teniendo en cuenta que el nivel de significación es del 5,00%, y asumiendo que la proporción esperada es del 55,00%¹³⁵ será necesario incluir 65 unidades experimentales en el estudio.

1.3. Metodología de Trabajo.

Se trata de un estudio transversal con un período de recogida de pacientes del 1 de febrero de 2016 a 30 de septiembre de 2016. A todos los pacientes potencialmente reclutables se les contactó telefónicamente para proponerles participar.

Una vez seleccionados, se realizó una “única visita” del enfermo dividida en dos fases: en la primera fase se realizó la determinación analítica de sangre y orina, historia clínica, mediciones antropométricas y del índice tobillo-brazo y pase del cuestionario de Edimburgo para enfermedad Arterial Periférica¹³⁶. La segunda fase consistió en la realización de las pruebas de imagen en un período inferior a un mes desde la realización de la primera entrevista.

2. VARIABLES DEL ESTUDIO.

2.1. Variables Clínicas.

-Edad, sexo y causa ERC

-Antecedentes personales cardiovasculares, factores de riesgo vascular prevalentes y su tiempo aproximado en años de evolución.

-Medicación en activo cardiovascular incluyendo antihipertensivos (número y tipos), hipolipemiantes (número y tipos), antidiabéticos orales/parenterales (número y tipos), insulina (cantidad diaria en Unidades Internacionales), antiagregantes y/o anticoagulantes (número y tipos) y toma de calcitriol/calcio elemento y/o calcifediol (dosis diaria o mensual).

-Incluye el Cuestionario de Edimburgo para enfermedad arterial periférica anteriormente descrito.

2.2. Variables Antropométricas y Exploratorias.

- Talla (en metros), Peso (en Kilogramos) y Perímetro Abdominal (en centímetros).
- Tensión Arterial Sistólica y Diastólica (en mmHg) en MMSS.
- Tensión Arterial Sistólica (en mmHg) en MMII para determinar Índice Tobillo/Brazo.

2.3. Variables Analíticas.

- Hemoglobina (gr/dL), Plaquetas ($\times 10^3/\text{mL}$) y Leucocitos ($\times 10^3/\text{mL}$).

-Glucemia (mg/dL), Creatinina sérica (CrS en mg/dL según método Jaffé modificado), urea (mg/dL), Aclaramiento de Creatinina (mL/min medido en orina de 24 h), Filtrado Glomerular (mL/min mediante la ecuación CKD-EPI), Hemoglobina glicosilada (HbA1c en %), Calcio total (mg/dL), Calcio Corregido (por albúmina plasmática en mg/dL), albúmina plasmática (g/dL), Fósforo Plasmático (mg/dL), Magnesio plasmático (mg/dL), perfil lipídico completo (todos en mgr/dL) incluyendo colesterol total, HDL-colesterol, Triglicéridos y estimación de LDL-colesterol (por la fórmula de Friedewald), Proteína C Reactiva (mg/L), 25-hidroxi-Vitamina D (ng/mL) y PTH intacta (pg/mL). Todas las determinaciones se efectuaron por el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Virgen de la Victoria.

-Orina recogida en 24 horas: volumen total (mL), Creatinina (mg/dL), Calcio (mg/dL), Fósforo (mg/dL), Albúmina (mg/L) y Proteínas (mg/dL). Todas las determinaciones se efectuaron también por el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Virgen de la Victoria.

-Otras determinaciones bioquímicas: niveles séricos de α -Klotho y FGF-23 se realizaron en el Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis del Centro de Investigaciones Médico-Sanitarias (CIMES) de la Universidad de Málaga. Para este caso, una vez extraídas las muestras de sangre, estas fueron transportadas al laboratorio en neveras refrigeradas entre 2 – 8 °C. El tiempo transcurrido desde la extracción hasta la recepción de estas por parte del laboratorio fue siempre inferior a 2 horas. Una vez recepcionadas, las muestras fueron centrifugadas y fraccionadas en partes alícuotas conforme a las directrices de la Organización Mundial de la Salud e inmediatamente almacenadas a – 80 °C hasta la realización de los ensayos.

2.4. Variables de Imagen.

-Calcio Score Abdominal mediante Tomografía Computarizada Multidetector (TCMD) en Unidades Absolutas.

-Índice Kauppila calculado mediante Radiografía Lateral de columna Lumbar con valor entre 0-24.

3. DESCRIPCIÓN VARIABLES Y MÉTODOS DE MEDICIÓN.

3.1. Variables Analíticas.

Todas las determinaciones analíticas se realizaron en ayunas entre las 8:00 h y las 10:00 h en la Unidad de Hemodiálisis del Hospital Virgen de la Victoria. Las determinaciones en orina se realizaron en la orina recogida 24 horas antes de la extracción.

- Calcio Sérico y Urinario: Método Enzimático estandarizado (Siemens Dimension Vista System, CA Flex®, Referencia K1023) para suero y orina con determinación de punto final y blanco muestra, basada en la reacción del calcio con o-cresoltaleína complexona en solución alcalina. El magnesio se enmascara con 8-hidroxiquinolina. La sensibilidad es de 0.2 mg/dL. Los valores de referencia son para suero 8,5-10,1 mg/dL y para orina de 42-353 mg/24 horas.

- Fósforo Sérico y Urinario: Se determina según un método de punto final con blanco muestra (Siemens Dimension Vista System, PHOS Flex®, Referencia K1061) basado en la reacción del fosfato frente a molibdato de amonio, formándose fosfomolibdato de amonio sin reducción. La sensibilidad es de 0,2 mg/dL. Los valores de referencia son para suero 2,5-4,9 mg/dL y para orina de 400-1300 mg/24 horas.

- Creatinina Sérica y Urinaria: El método de creatinina emplea una modificación de la reacción cinética de Jaffe (Siemens Dimension Vista System, CREA Flex®, Referencia K1033). En presencia de una base fuerte, como NaOH, el picrato reacciona con la creatinina para formar un cromóforo de color rojo y se mide mediante la técnica de índice bicromático. La sensibilidad es de 0,2 mg/dL. Los valores de referencia son para suero 0,6-1,3 mg/dL y para orina de 600-2500 mg/24 horas.

-Cálculo Filtrado Glomerular: Usaremos la fórmula CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) que se calcula en base a la edad y a la creatinina sérica siguiendo las fórmulas descritas en la literatura¹³⁰.

- Excreción Fraccionada de Fósforo (EFPI): Resultado de dividir fósforo urinario x creatinina plasmática entre fósforo plasmático y creatinina en orina x100, que mediremos a partir de la orina recogida en las 24 horas previas a las determinaciones en sangre con objeto de evitar las oscilaciones del fósforo en orina según el momento del día¹³⁷.

- Albuminuria: se basa en un inmunoensayo de inhibición turbidimétrico mejorado con partículas. El reactivo (Siemens Dimension Vista System, Flex® de MALB, Referencia DF114) está compuesto por partículas sintéticas con albúmina humana fijada a la superficie. Cuando se introduce un anticuerpo monoclonal (Ab) a la albúmina humana, se forman agregados de estas partículas. La albúmina (ALB) presente en la muestra compite con las partículas por el anticuerpo, reduciendo así la tasa de agregación. De esta forma, la tasa de agregación es inversamente proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. La tasa de agregación se mide mediante lecturas turbidimétricas bicromáticas. La sensibilidad es de 10 mg/L. Los valores de referencia son menos de 30 mg/24 horas o menos de 30 mg albúmina /g creatinina.

- Proteinuria: Se determina según un método de punto final con blanco muestra (Siemens Dimension Vista System, UCFP Flex®, Referencia DF26), basado en la reacción de la proteína con el rojo de pirogalol combinado con molibdato de sodio para formar un complejo rojo con una absorbancia máxima de 470 nm. La proteína reacciona con este complejo en una solución ácida para formar un complejo de color azulado-púrpureo, que absorbe a 600 nm. La absorbancia a 600 nm es directamente proporcional a la concentración de proteína en la muestra. La sensibilidad es de 1,2 mg/L. Los valores de referencia de la normalidad son <11,9 mg/dL ó de 149.1 mg/día.

- 25 (OH) Vitamina D: Se trata de un ensayo electroquimioluminiscente de fijación está concebido para ser utilizado en los inmunoanalizadores Elecsys® y Cobas® (Ref. 05894913 190) e dividido en 4 pasos. Primero se extrae la 25-OH-D mediante ditiotretol. Segundo paso se une la 25-OH-D a una proteína fijadora marcada con Rutenio. Tercer paso Tras añadir micropartículas recubiertas de estreptavidina y 25-hidroxivitamina D marcada con biotina, se ocupan los puntos de fijación libres de la proteína fijadora de vitamina D marcada con rutenio formándose un complejo que consiste en la proteína fijadora de vitamina D marcada con rutenio y la 25-hidroxivitamina D biotinilada.

El complejo total se fija a la fase sólida por la interacción entre la biotina y la estreptavidina. Por último, la mezcla es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador. La sensibilidad es de 2 ng/mL. Los valores en suero de referencia para deficiencia son <20 ng/mL y para insuficiencia de 21-29 ng/mL.

- Parathormona Intacta (PTHi): Este inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (electrochemiluminescence immunoassay) "ECLIA" está concebido para su empleo en los analizadores automáticos Elecsys® y cobas® (Ref. 11972103 122) y se trata de un ELISA tipo sandwich directo con lectura fotométrica. Consta de 3 pasos: Primero un anticuerpo monoclonal biotinilado anti-PTH y un anticuerpo monoclonal anti-PTH marcado con un quelato de rutenio reaccionan para formar un complejo sándwich. En segundo lugar, después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina. Por último, la mezcla es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador. La sensibilidad es de 1,73 pg/mL. Los valores en suero de referencia son de 20-70 pg/mL.

- La cuantificación de los niveles séricos de α -Klotho fueron realizadas mediante métodos ELISA con lectura fotométrica en un Lector de placas Beckman DTX880 (BECKMAN. CALIFORNIA. EEUU). Se emplearon kits comerciales (CUSABIO. HON KONG. CHINA) de ELISA tipo sandwich directo con lectura fotométrica a 450 nm y corrección a 540 nm, utilizando TMB como sustrato de reacción.

- La cuantificación de los niveles séricos de FGF-23 fueron realizadas mediante métodos ELISA con lectura fotométrica en un Lector de placas Beckman DTX880 (BECKMAN. CALIFORNIA. EEUU). Se emplearon kits comerciales (KAINOS, HUMAN FGF23 EILSA KIT) de ELISA tipo sandwich directo con lectura fotométrica a 450 nm y corrección a 540 nm, utilizando TMB como sustrato de reacción.

3.2. Variables no Analíticas.

- Medición Índice Tobillo-Brazo (ITB):

El ITB fue determinado usando el ECO-Doppler bi-direccional portátil de 8 MHz (Mini-Doppler HADECO ES-100, Kawasaki, Japan) y un Esfingomanómetro de mercurio pre-calibrado. La PAS fue medida en la arteria tibial posterior y en la arteria dorsal del pie de ambas extremidades inferiores, y la presión de la arteria braquial de ambas extremidades. El valor del ITB se calculó usando el mayor valor de PAS tomada de cada miembro inferior dividido entre la mayor PAS tomada en los miembros superiores. El menor valor de ITB fue obtenido para cada paciente mediante el subsiguiente análisis estadístico de los datos. Un ITB por debajo de 0,9 fue considerado patológicamente bajo y un ITB por encima de 1,3 fue considerado patológicamente elevado.

- Índice Kauppila (IK):

Se midió sobre una radiografía lateral de abdomen que incluyó las dos últimas vértebras torácicas y las dos primeras sacras. La arteria aorta se identificó como una estructura tubular por delante de la cara anterior de la columna vertebral. Sólo se consideró el segmento de la aorta desde la primera a la cuarta vértebra lumbar. La puntuación fue de 1 a 3 por calcificación (de leve a grave) según la intensidad de la calcificación por la cara anterior y la posterior de cada vértebra. De forma que cada segmento vertebral presenta una puntuación de 0 a 6 y que la puntuación total va de 0 a 24.

En función de la puntuación del IK podemos considerar al paciente como¹³⁸:

- Puntuación 0: Normal.
- Puntuación 1-4: Afectación leve.
- Puntuación 5-15: Afectación moderada.
- Puntuación 16-24: Afectación grave.

- Calcio Score Aorta Abdominal (CSAA):

El CSAA se calculó mediante Tomografía Computarizada Multidetector (TCMD) realizando cortes desde las cúpulas diafragmáticas hasta sínfisis del pubis. La colimación del detector fue de 0,6 mm o 0,625 mm, y las imágenes axiales se reconstruyeron con un espesor de 3 mm. El voltaje del tubo fue de 120 kVp, y el producto de la corriente del tubo y el tiempo de exposición osciló entre 65-350 mAs, dependiendo de la indicación y del peso corporal del paciente.

Una vez obtenidas las imágenes se seleccionó el área a medir el CSAA desde un centímetro por encima de la salida del tronco celíaco hasta un centímetro por debajo de la bifurcación de las ilíacas. Se distribuyó los cortes en 3 regiones, equivalentes a las 3 arterias coronarias que mide Agatston con su método, siendo estas 3 áreas desde 1cm por encima del trípode celíaco hasta 1 cm por debajo de las arterias renales, el segundo segmento desde 1cm por debajo de las renales a 1cm por encima de la bifurcación aorto-ilíaca, y el tercer segmento desde 1cm por encima a 1cm por debajo de la bifurcación. Para que el programa no incluyera la calcificación que presentan los cuerpos vertebrales en el cálculo total, se seleccionó manualmente (a mano alzada) la región aórtica donde se midió el CSAA⁶³.

El Calcio Score lleva una puntuación en función al método descrito por Agatston⁶², que viene determinado por las unidades Hounsfield (HU) de radiodensidad del tejido humano para la TCMD. El número total de píxeles dentro de la Región de Interés que fueron superiores a los 130 HU predefinidos se calcularon automáticamente para el CSAA. Se le otorgó 1 punto con radiodensidad entre 130-199 HU, 2 puntos de 200-299 HU, 3 puntos de 300-399 HU y 4 puntos con +400 HU.

En función de la puntuación del CSAA pudimos considerar al paciente como^{40,63}:

- Puntuación 0 HU: Normal.
- Puntuación 1-1025 HU: Afectación leve.
- Puntuación 1026-5000 HU: Afectación moderada.
- Puntuación 5001+ HU: Afectación Severa.





4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron importados a SPSS 22.0. Las variables se muestran como media \pm SD (mediana y rango intercuartílico si no se ajustaron a la normalidad) o como número y (%). Para comparar entre grupos utilizamos la t de Student para muestras independientes (Mann-Whitney si no hubo normalidad) y como test de asociación para variables cualitativas el test de la χ^2 .

Para evaluar que factores se asociaban de forma independiente con la calcificación vascular, utilizamos el test de regresión logística binaria por pasos hacia adelante (Wald), tomando el CSAA >1025 como variable independiente y el resto de factores analizados como covariables.

Consideramos significativa una $p < 0.05$.

5. ASPECTOS ÉTICOS.

Esta investigación recibió la aprobación del Comité de Ética de la Investigación de Málaga en su sesión de 30 de julio de 2015. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado.

Los investigadores declaran no tener conflictos de interés. Esta investigación se ha financiado con fondos propios del grupo de Investigación Arteriosclerosis, Prevención Cardiovascular y Metabolismo del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA).



IV. RESULTADOS

Durante el período de inclusión se contactó telefónicamente con 139 sujetos, de los cuales rechazaron 29. De los 110 pacientes que inicialmente accedieron, rechazaron 21 acudir a la visita concertada, y 4 más de ellos aceptaron y luego no acudieron, quedando finalmente una muestra de 85 pacientes.

Finalmente, de los 85 pacientes que participaron 5 fueron excluidos, tres por no tener pruebas de imagen y dos por tener el fósforo sérico superior a 4.6 mg/dL, siendo la “n” final de 80 pacientes.

1. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA.

La Tabla 7 muestra las características principales de los pacientes incluidos. La HTA fue el factor de riesgo más prevalente (91,3%) frente a la diabetes que sólo la presentan el 37,5% de los sujetos.

Tabla 7. Factores de Riesgo Tradicionales de la muestra.

Sexo	Hombres	58 (72%)
	Mujeres	
22 (28 %)		
Edad (años)	58 ± 8	
Tabaco	55 (69%)	
Diabetes	30 (37,5%)	
Años de Diabetes	15 ± 7	
HTA	73 (91%)	
Años de HTA	12 ± 8	
Dislipemia	63 (79%)	

La Tabla 8 muestra las causas de la ERC. Respecto a la etiología, si agrupamos la causa Vascular/Isquémica y la Diabética (ambas en relación directa con el riesgo vascular) suponen casi la mitad de los pacientes (n=38).

Tabla 8. Etiología de la ERC en nuestra muestra

Vascular/Isquémica	23 (29%)
Diabética	15 (19%)
No Filiada	13 (16%)
Hereditaria	8 (10%)
Glomerular	4 (5%)
Obstructiva	4 (5%)
Enf. Sistémica	4 (5%)
Nefrotóxica	4 (5%)
Otros	5 (6,3%)

Como se muestra a continuación, la mayoría de los pacientes no presentan comorbilidad cardiovascular alguna (78%), siendo la más frecuente la comorbilidad coronaria (12%).

Tabla 9. Comorbilidades Cardiovasculares de la muestra*

Ninguna	62 (78%)
Ictus Aterotrombótico	7 (9%)
Enfermedad Coronaria	9 (12%)
SCA	6 (8%)
Angina Estable	3 (4%)
Enfermedad Vascular Periférica	5 (6,5%)
Revascularización	3 (4%)
Amputación	2 (2,5%)

*Hay pacientes con más de una comorbilidad.

La mayoría de los pacientes presentaban combinaciones de ARAII con calcioantagonistas o Tiazidas, pasando a un segundo plano el uso de IECAs, β -Bloqueantes y el resto de fármacos.

Tabla 10. Tratamientos Antihipertensivo según tipo y pauta de tratamiento*.

IECAs	19 (24%)
ARAI	57 (71%)
Calcioantagonistas	33 (41%)
Tiazidas	38 (48%)
Diuréticos Asa	9 (11%)
β-Bloqueantes	22 (28%)
α-Bloqueantes	7 (9%)
Ahorradores de Potasio	5 (6%)
Ninguno	5 (6%)
Monoterapia	18 (23%)
Biterapia	21 (26%)
Triterapia	19 (24%)
Multiterapia⁺	17 (21%)

*Existen 2 pacientes con monoterapia que no son HTA, sino lo toman como antiproteinúrico.

⁺El concepto se refiere a la toma de más de 4 fármacos por parte del sujeto.

Como podemos ver en la tabla 11, a pesar de la ERC, el Antidiabético oral más usado es la Metformina, aunque el fármaco más usado sea la insulina.

Tabla 11. Tratamientos antidiabéticos de la Muestra

Insulina	16 (55%)
Dosis Insulina (UI/día)	52 ± 27
Otros Antidiabéticos	19 (66%)
Metformina	12 (41%)
Sulfonilurea	6 (21%)
Glitazonas	1 (3%)
Gliptinas	5 (17%)
Análogos GLP1⁺	4 (14%)
Inhibidores SGLT2[*]	2 (7%)

* inhibidores del Transportador -2 de Glucosa Sodio –dependiente. +Péptido similar al glucagón tipo 1.

En cuanto a otros tratamientos, como vemos en la Tabla 12 las estatinas son el fármaco predominante, seguido de los antiagregantes y calcifediol.

Tabla 12. Tratamientos Hipolipemiantes, Calcio y derivados de la Vitamina D, Antiagregantes y anticoagulantes.

Estatinas	59 (74%)
Fibratos	3 (4%)
Omega 3	8 (10%)
Ezetimiba	5 (6%)
Calcifediol	23 (29%)
Dosis Calcifediol (U.I./mes)	23130 ± 14719
Carbonato Cálcico*	4 (5%)
Calcitriol	2 (2,5%)
Antiagregantes	29 (36%)
Anticoagulantes	11 (14%)

* La dosis que tomaban los pacientes era un máximo de 500 mg de calcio elemento con la indicación de tratamiento para la osteoporosis.

82

Tabla 13. Presencia de Claudicación de la Muestra*.

Ninguna	61 (76,3%)
Típica	11 (13,8%)
Atípica	8 (10%)

*Según el Cuestionario de Edimburgo.

Como muestra la Tabla 14, la media de los pacientes presenta una IMC en rango de obesidad grado I y tienen unas cifras de tensión arterial subóptimas.

Tabla 14. Medidas Antropométricas de la Muestra.

Peso (Kg)	83,2±14,8
Talla (cm)	166±8
Perímetro Cintura (cm)	104±11
I.M.C. (Kg/m²)	30±4,7
I.M.C. (18-24,99)	10 (12,5%)
I.M.C. (25-30)	30 (37,5%)
I.M.C. (>30)	40 (50%)
T.A. Sistólica (mmHg)	138,4±21,6
T.A. Diastólica (mmHg)	84,5±13,5

Tabla 15. Índice Tobillo/Brazo de la Muestra.

ITB 0,9-1,3	35 (43%)
ITB<0,9	16 (20%)
ITB>1,3	27 (34%)
Casos Perdidos	2 (3%)

*Uno de los casos perdidos es un paciente biamputado.

La anemia no es uno de los problemas de nuestros pacientes en la ERC grado 3 como cabía esperar, siendo más frecuente en los estadios 4 y 5. Ningún paciente de la muestra precisaba EPO para su control.

Tabla 16. Hematimetría destacada de la Muestra.

Hemoglobina (g/dL)	13,8 ± 1,7
Dispersión de hematíes (ADE) (%)	14,6 ± 1,6
Neutrófilos (x10³/mL)	4,3 ± 1,4
Plaquetas (x10³/mL)	222,5 ± 63,1
Volumen Plaquetario Medio.	8,7 ± 0,8

La Glucemia y la HbA1c que figuran se refiere a la población diabética de la muestra (n=30). La media del Filtrado Glomerular cae casi justo en 45 ml/min/1.73 m², siendo 46 los pacientes con FG<45 ml/min/1.73 m² y los 34 restantes por encima. En cuanto a la inflamación, sólo 34 sujetos (42,5%) tuvieron una PCR>3,1mg/L cuya media y desviación expresamos en la tabla.

Tabla 17. Función renal y Perfil Metabólico básico.

Glucemia (mg/dL)	142 ± 54
HbA1c (%)	7,1 ± 1,2
Creatinina (mg/dL)	1,6 ± 0,4
FG (CKD.EPI) (ml/min/1.73 m²)	43,8 ± 9,7
Colesterol Total (mg/dL)	176 ± 38
HDL-Colesterol (mg/dL)	47 ± 13
Colesterol no-HDL (mg/dL)	129 ± 38
LDL-Colesterol (mg/dL)*	95 ± 33
Triglicéridos (mg/dL)	190 ± 115
PCR (mg/L)	7,9 ± 3,5

*Calculado mediante la Fórmula de Friedewald.

Tabla 18. Parámetros Metabolismo Fosfo-Cálcico.

Calcio plasma (mg/dL)	8,8 ± 0,4
Calcio Corregido (mg/dL)	9,0 ± 0,5
Fósforo plasma (mg/dL)	3,3 ± 0,6
Producto Calcio-Fósforo (mg ² /dL ²)	29,7 ± 5,9
PTHi (pg/mL)	69,9 ± 37,8
25(OH)Vitamina D (ng/mL)	26,3 ± 11,1
α-Klotho (ng/mL)	0,129 ± 0,108
FGF23 (pg/mL)	131,2 ± 60,9

Tabla 19. Proteinuria, Albuminuria y los lones urinarios de la Muestra.

Cociente Albúmina/Creatinina (mg/g)*	102 (13-676)
Proteinuria 24 h*	0,19 (0,07-0,65)
Proteinuria Nefrótica	4 (5%)
Fosfaturia (mg/24 h)	898±374
Calciuria (mg/24 h)	121±66
EFPi (%)	35,7±13,2

*Expresados en Medianas y Rango intercuartílico.

Más útil que los valores absolutos obtenidos en la Aorta abdominal en todo su trayecto (tabla 20), y también en sus 3 secciones, es el porcentaje de sujetos que presentan un Calcio Score significativo (Ver Tabla 21). Al realizar el cálculo de tamaño muestral esperábamos encontrar un 55% de pacientes con CSAA grado moderado o severo, siendo el obtenido por nuestro estudio casi idéntico (56,3%).

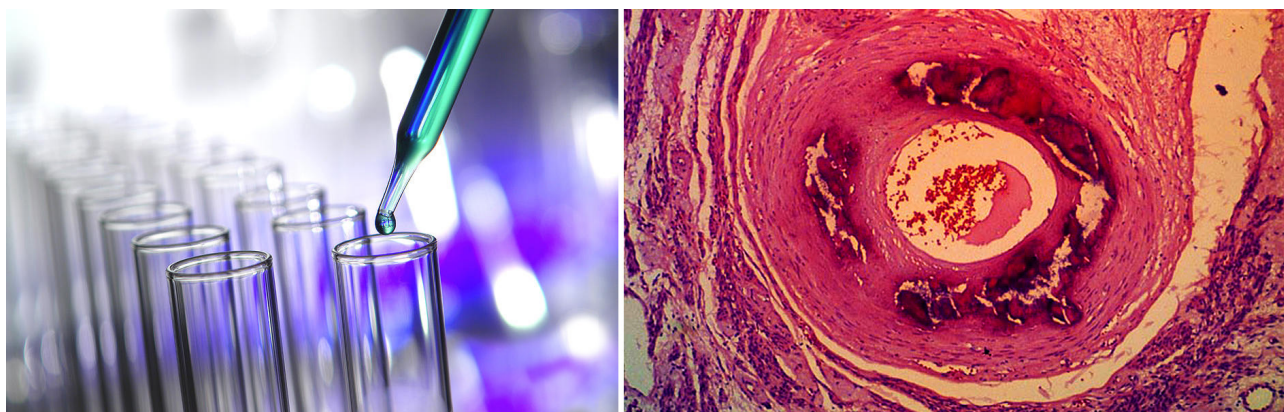
Tabla 20. Calcio Scores de Aorta Abdominal de la Muestra.

Calcio Score Abdominal (CSAA)	80	1265,2 (96,7-3826,9)
CSAA Superior	80	88,6 (0-665,6)
CSAA Medio	80	774,9 (69,3-1848,5)
CSAA Inferior	80	278,6 (13,25-1269)
Índice Kauppila (0-24)*	78	1 (0-3)

*Dos sujetos no se realizaron la Rx lateral lumbar.







2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LA CALCIFICACIÓN VASCULAR

En función de este parámetro, dividimos la población entre aquella que tenía unos valores de CSAA aceptables o normal (<1025) para una $n=35$ (44%) y otra subpoblación de CSAA elevado o patológico (>1026) con una $n=45$ (56%).

Tabla 21. Calcio Scores de Aorta abdominal por grados de afectación de la Muestra.

	Rango CSAA	
CSAA normal	0	8 (10%)
CSAA grado leve	1-1025	27 (33,8%)
CSAA grado moderado	1026-5000	29 (36,3%)
CSAA grado severo	+5000	16 (20%)

La Tabla 22 muestra la distribución de factores de RCV en los grupos con distinta CSAA, donde puede observarse una mayor prevalencia de hábito de fumar e hipertensión arterial y una mayor edad en el grupo con CSAA elevado; hubo una tendencia no significativa a mayor número de hombres y diabetes en éste último grupo.

En cuanto a la etiología, claramente la Vascular/Isquémica y la Diabética tienen mayor proporción de CV respecto al resto y se manifiesta de forma significativa ($p=0,04$). La Etiología hereditaria también claramente presenta menor calcificación. El resto es poco significativo puesto que la muestra es escasa.

Tabla 22. Factores de Riesgo Tradicionales y su relación con el CSAA.

Variable	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Sexo			
Hombre	58 (72,5%)	22 (38%)	36 (62%)
Mujer	22 (27,5%)	13 (59%)	9 (41%)
Edad (años)*	58 ± 8	54 ± 9	61 ± 6
Tabaco*	55 (68,7%)	17 (31%)	38 (69%)
Diabetes	30 (37,5%)	10 (33%)	20 (66%)
Años de Diabetes	15 ± 7,2	13,4 ± 9,2	15,6 ± 6,3
HTA*	73 (91,3%)	29 (40%)	44 (60%).
Años de HTA	12 ± 7,7	12,2 ± 8,2	11,8 ± 7,5

* $p<0,05$

Como vemos en la siguiente tabla, sorprendentemente un grado de ERC más avanzado no se asocia con mayor CV. Sin embargo la comorbilidad cardiovascular sí lo hace, como era esperable.

Tabla 24. Grado de ERC y Comorbilidad Cardiovascular y su relación con la CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
ERC grado 3A	34 (42,5%)	15 (42,9%)	19 (42,2%)
ERC grado 3B	46 (57,5%)	20 (57,1%)	26 (57,8%)
No Comorbilidad*	62 (77,5%)	31 (88,6%)	31 (68,9%)
Comorbilidad*	18 (22,5%)	4 (11,4%)	14 (31,1%)

* $p<0,05$

Al estudiar los regímenes de tratamiento antihipertensivo observamos una fuerte relación con el CSAA elevado y el grupo tratado con 4 o más fármacos (refractarios), frente al resto.

Tabla 25. Regímenes de Terapia Antihipertensiva y su relación con el CSAA.

Terapia	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Ninguno	5 (6,3%)	4 (11,4%)	1 (2,2%)
Monoterapia	18 (22,5%)	10 (28,6%)	8 (17,8%)
Biterapia	21 (26,3%)	10 (28,6%)	11 (24,4%)
Triterapia	19 (23,7%)	10 (28,6%)	9 (20%)
Multiterapia*	17 (21,3%)	1 (2,8%)	16 (35,6%)

*p<0,05

Ninguno de los pacientes tuvo diferencias en cuanto al grado de CSAA en función de su tratamiento para la Diabetes o Hipolipemiente, aunque se apreciaba tendencia hacia la significación en aquellos tratados con estos últimos respecto a los no tratados.

Tabla 26. Tratamiento Antidiabético (n =30) e Hipolipemiente y su relación con la CSAA.

		CSAA normal	CSAA patológico
ADOs	19 (63,3%)	7 (70%)	12 (60%)
Sin ADOs	11 (36,7%)	3 (30%)	8 (40%)
Insulina	16 (55,2%)	4 (40%)	12 (60%)
No Insulina	14 (44,8%)	6 (60%)	8 (40%)
Hipolipemiente	63 (78,7%)	25 (71,4%)	38 (84,4%)
No Hipolipemiente	17 (21,3%)	10 (28,6%)	7 (15,6%)

La subpoblación que tomaba calcio oral por indicación de la osteoporosis era de 4 sujetos con una significación en $p=0,07$ probablemente por escasa muestra. Los pacientes que tomaban antiagregantes tenían más CV del mismo modo que aquellos con Comorbilidad Cardiovascular también la tenían.

Tabla 27. Otros Tratamientos relacionados con el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Carbonato Cálcico	4 (5%)	0	4 (8,9%)
No Carbonato Cálcico	76 (95%)	35 (100%)	41 (91,1%)
Antiagregantes*	29 (36,3%)	7 (20%)	22 (48,9%)
No Antiagregantes*	51 (63,8%)	28 (80%)	23 (51,1%)
Anticoagulantes	11 (13,7%)	3 (8,6%)	8 (17,8%)
No Anticoagulantes	69 (86,3%)	32 (91,4%)	37 (82,2%)

* $p<0,05$

La tabla 28 les muestra la falta de asociación entre la presencia de claudicación intermitente y la CV.

Tabla 28. Relación entre la presencia de clínica de Claudicación Intermitente y el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Ninguna	61 (76,3%)	26 (74,3%)	35 (77,8%)
Típica	11 (13,8%)	4 (11,4%)	7 (15,6%)
Atípica	8 (10%)	5 (14,3%)	3 (6,6%)

Tampoco hubo, como se aprecia en la tabla siguiente, relación alguna entre el ITB y el CSAA.

Tabla 29. Relación entre el Índice Tobillo/Brazo y el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=43)
ITB 0,9-1,3	35 (43,8%)	18 (51,4%)	17 (39,5%)
ITB<0,9	16 (20%)	5 (14,3%)	11 (25,6%)
ITB>1,3	27 (33,8%)	12 (34,3%)	15 (34,9%)
Casos Perdidos*	2 (2,5%)	-	-

*Uno de los casos perdidos es un paciente biamputado.

A continuación mostramos la relación que sí fue significativa entre el ITB con el CSAA referido al tercio inferior de la aorta abdominal que incluye la bifurcación de la aorta y el inicio de las arterias ilíacas.

Tabla 30. Relación entre el Índice Tobillo/Brazo y el CSAA del tercio inferior del estudio.

	CSAA Inferior (Tercil bajo) n=25	CSAA Inferior (Tercil medio) n=27	CSAA Inferior (Tercil alto) n=25
ITB 0,9-1,3	14 (56%)	14 (52%)	7 (28%)
ITB<0,9*	3 (12%)	2 (7%)	10 (40%)
ITB>1,3	8 (32%)	11 (41%)	8 (32%)

p=0,02

Pero como se muestra en la tabla que viene a continuación sí existe una relación muy significativa entre el ITB y los datos obtenidos por el cuestionario de Edimburgo para la Claudicación.

No hubo relación alguna entre la CV medida mediante CSAA y las medidas antropométricas, ni tampoco en la diferencia entre la TA sistólica y la diastólica.

Tabla 31. Relación entre el Índice/Tobillo/Brazo y la Claudicación Intermitente.

	No Claudicación (n=59)	Claudicación Típica (n=10)	Claudicación Atípica (n=8)
ITB 0,9-1,3*	31 (53%)	3 (30%)	1 (12%)
ITB<0,9	6 (10%)	7 (70%)	2 (25%)
ITB>1,3	22 (37%)	0 (0%)	5 (63%)
Casos Perdidos	3		

p<0,0005

Sólo la Dispersión de Hematíes o la Amplitud de Distribución Eritrocitaria (ADE) se relacionaba con el CSAA dentro de los parámetros hematimétricos.

Tabla 32. Relación entre medidas Antropométricas y el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Peso (Kg)	83,2 ± 14,8	83 ± 14,7	83,4 ± 15
Talla (cm)	166 ± 8	167 ± 10	166 ± 8
Perímetro Cintura (cm)	104 ± 11	103 ± 12	105 ± 11
I.M.C. (Kg/m²)	30±4,7	29,9 ± 4,6	30,2 ± 4,8
I.M.C. (18-24,99)	10 (12,5%)	6 (17%)	4 (9%)
I.M.C. (25-30)	30 (37,5%)	10 (29%)	20 (44%)
I.M.C. (>30)	40 (50%)	19 (54%)	21 (47%)
T.A. Sistólica (mmHg)	138,4 ± 21,6	136,1 ± 21,2	140,3 ± 22
T.A. Diastólica (mmHg)	84,5 ± 13,5	85,4 ± 13	83,8 ± 14

No hubo relación significativa entre los parámetros de función renal y del CSAA, así como tampoco con los parámetros de metabolismo glucídico ni lipídico. Tampoco se apreció relación entre presentar una PCR elevada o no frente al CSAA.

Tabla 33. La Hematimetría y su relación con el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Hemoglobina (g/dL)	13,8 ± 1,7	13,8 ± 1,7	13,7 ± 1,7
Dispersión de hematíes (ADE) (%)*	14,6 ± 1,6	14 ± 1,3	15,1 ± 1,7
Neutrófilos (x10³/mL)	4,3 ± 1,4	4,2 ± 1,5	4,4 ± 1,3
Plaquetas (x10³/mL)	222,5 ± 63,1	235,8 ± 64,1	212,1 ± 61
Volumen Plaquetario Medio.	8,7 ± 0,8	8,8 ± 1	8,7 ± 0,8

*p<0,005

No hubo relación significativa entre los parámetros de función renal y del CSAA, así como tampoco con los parámetros de metabolismo glucídico ni lipídico. Tampoco se apreció relación entre presentar una PCR elevada o no frente al CSAA.

Tabla 34. Relación entre la Función renal, el metabolismo lipídico y el metabolismo glucídico con el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Glucemia (mg/dL)*	142 ± 54	156 ± 57	135 ± 52
HbA1c (%)*	7,1 ± 1,2	7,4 ± 1,3	7 ± 1,2
Creatinina (mg/dL)	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,3	1,7 ± 0,4
FG (CKD.EPI) (ml/min/1.73 m²)	43,8 ± 9,7	44,6 ± 8,1	43,3 ± 10,8
Colesterol Total (mg/dL)	176 ± 38	183 ± 44	171 ± 33
HDL-Colesterol (mg/dL)	47 ± 13	49 ± 12	45 ± 13
Colesterol no- HDL (mg/dL)	129 ± 38	134 ± 44	126 ± 32
LDL-Colesterol (mg/dL)⁺	95 ± 33	101 ± 39	91 ± 28
Triglicéridos (mg/dL)	190 ± 115	179 ± 109	199 ± 120
PCR (mg/L)	7,9 ± 3,5	8,1 ± 3,8	7,7 ± 3,2

*Sujetos sólo diabéticos (n=30)

⁺Calculado mediante la Fórmula de Friedewald.

De todos los parámetros del metabolismo óseo-mineral solamente FGF-23 ($p < 0.04$) tuvo relación significativa con el CSAA. Aunque el Producto Calcio-Fósforo y el Fósforo plasmático rozaron la significación con $p = 0,054$ y $p = 0,06$, respectivamente.

Tabla 35. Relación entre parámetros del Metabolismo Calcio-Fósforo y el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Calcio plasma (mg/dL)	8,8 ± 0,4	8,8 ± 0,4	8,8 ± 0,5
Calcio Corregido (mg/dL)	9,0 ± 0,5	9,0 ± 0,4	9,0 ± 0,5
Fósforo plasma (mg/dL)	3,3 ± 0,6	3,2 ± 0,5	3,4 ± 0,6
Producto Calcio-Fósforo (mg²/dL²)	29,7 ± 5,9	28,3 ± 5,2	30,8 ± 6,2
PTHi (pg/mL)	69,9 ± 37,8	68,9 ± 35,7	70,8 ± 36,2
25(OH)Vitamina D (ng/mL)	26,3 ± 11,1	26,5 ± 11,5	26,5 ± 11,0
FGF-23 (pg/mL)*	131,2 ± 60,9	115,3 ± 42,1	143,6 ± 70,2
α-Klotho (ng/mL)	0,129 ± 0,108	0,126 ± 0,093	0,132 ± 0,119

*p<0,05

Ni la fosfaturia ni la EFPI tuvieron relación significativa con el CSAA, sin embargo los parámetros que midieron la proteinuria sí la tuvieron.

Tabla 36. Relación entre parámetros urinarios y el CSAA.

	n=80	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
CAC (mg/g)*	102 (13 - 676)	27 (8 - 575)	113 (19 - 1022)
Proteinuria 24 h*	0,19 (0,1 - 0,65)	0,18 (0,1 - 0,64)	0,21 (0,1 - 0,72)
Fosfaturia (mg/24 h)	898 ± 374	861 ± 415	926 ± 341
EFPI (%)	36 ± 13	34 ± 13	37 ± 13

*p<0,05

Finalmente, evaluamos el otro parámetro que nos mide la CV, el Índice Kauppila (IK), y comparamos los parámetros de metabolismo óseo-mineral con el IK dividido en IK bajo (puntuación 0-4) o IK alto (5-24). Observamos que el Calcio, el Fósforo y el CaxP muestran una asociación significativa con este índice; La EFPi mostró una clara tendencia a estar más alto en los sujetos con IK elevado que en sujetos con IK bajo ($p=0.08$).

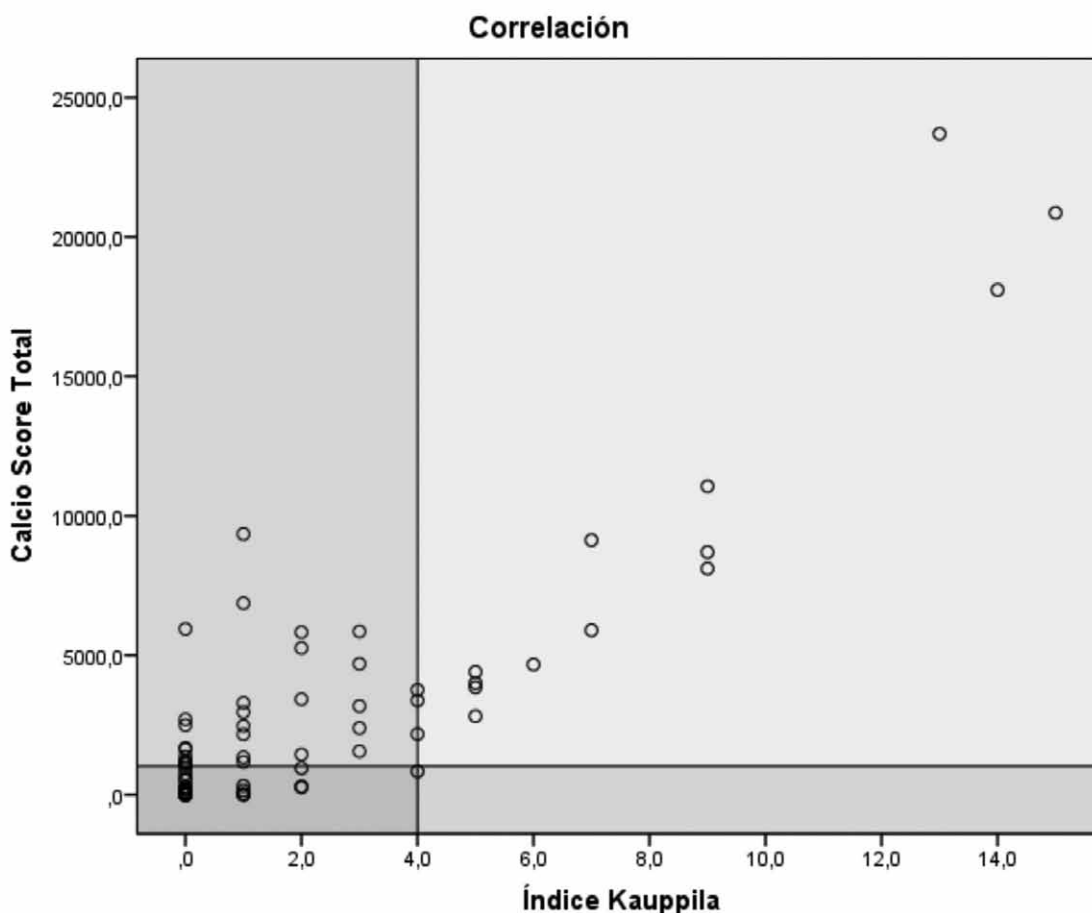
Tabla 37. Relación entre las variables del Metabolismo Óseo Mineral y la Comorbilidad con el Índice Kauppila.

	n=78	IK bajo (n=65)	IK alto (n=13)
No Comorbilidad*	61 (78%)	48 (74%)	13 (100%)
Comorbilidad*	17 (22%)	17 (26%)	0 (0%)
Calcio plasma (mg/dL)*	8,8 ± 0,4	8,7 ± 0,4	9,0 ± 0,5
Fósforo plasma (mg/dL)*	3,3 ± 0,6	3,2 ± 0,6	3,6 ± 0,6
CaxP (mg²/dL²)*	29,7 ± 5,9	28,6 ± 5,4	34 ± 6
PTHi (pg/mL)	69,9 ± 37,8	70,1 ± 37	68,7 ± 32,4
25(OH)Vitamina D (ng/mL)	26,3 ± 11,1	25,7 ± 11,1	28,7 ± 11,5
FGF23 (pg/mL)	131,2 ± 60,9	125,4 ± 50,7	143,9 ± 84,9
α-Klotho (ng/mL)	0,129 ± 0,108	0,132 ± 0,115	0,121 ± 0,02
EFPi (%)	35,7±13,2	34,7 ± 12,4	41,6 ± 15,6

* $p<0,05$

Existe una elevada correlación entre las dos formas de medir la CV, el CSAA y el IK (coeficiente de Pearson 0.875, $p < 0.05$), como muestra la Figura 1. En el eje de ordenadas del CSAA la línea horizontal expresa el punto de corte de 1025 para diferenciar grado “normal” de “patológico”, y en el eje de abscisas del IK con una línea vertical en 4 inclusive hasta donde se considera IK bajo. No hubo sujeto alguno que presentara IK alto que no estuviera incluido en el grupo del CSAA patológico.

Gráfico 4. Correlación entre el Calcio Score de la Aorta Abdominal y el Índice Kauppila.



A continuación mostramos otros cuatro subgrupos de población divididos según tengan la EFPI y el FGF-23 por encima o por debajo de la mediana de los valores obtenidos nombrándolos “alto” o “bajo” según estén por encima o por debajo de la misma.

Tabla 38. Comparación de la población por subgrupos según FGF-23 y EFPi alto/bajo con el CSAA

	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Subgrupo FGF-23 bajo EFPi bajo	9 (26%)	8 (18%)
Subgrupo FGF-23 bajo EFPi alto	10 (28%)	13 (29%)
Subgrupo FGF-23 alto EFPi bajo	8 (23%)	15 (33%)
Subgrupo FGF-23 alto EFPi alto	8 (23%)	9 (20%)

Comparamos en la siguiente tabla, por subgrupos según Klotho y EFPi alto o bajo, estuvieran o no el valor por encima o por debajo de la mediana de la variable. Y no hubo resultado significativo, siendo el subgrupo con más tendencia a tener un CSAA elevado el Klotho bajo y EFPi alto.

Tabla 39. Comparación de la población por subgrupos según Klotho y EFPi alto/bajo con el CSAA.

	CSAA normal (n=35)	CSAA patológico (n=45)
Subgrupo Klotho bajo EFPi bajo	14 (40%)	11 (24%)
Subgrupo Klotho bajo EFPi alto	4 (11%)	11 (24%)
Subgrupo Klotho alto EFPi bajo	6 (17%)	8 (18%)
Subgrupo Klotho alto EFPi alto	11 (32%)	15 (34%)

La Tabla 40 les muestra un análisis de regresión logística binaria tomando como variable dependiente el CSAA patológico. En el análisis univariante la edad, tabaco, hipertensión arterial, la terapia hipotensora, la presencia de comorbilidades vasculares, el ADE, CAC y FGF23 se asociaron con un nivel patológico de CSAA; en el análisis multivariante sólo la edad, el hábito de fumar y el producto CaxP (añadimos el CaxP en el análisis multivariante porque la $p=0,054$ era cercana a la significación en el univariante) se mantuvieron asociados de forma independiente.

Tabla 40. Regresión Logística Binaria de las variables incluidas en la ecuación con el CSAA como variable dependiente.

	Score Univariante	Odds Ratio Multivariable*	p
Edad	12,27	1,257 (1,115 – 1,417)	<0,0005
Tabaco	11,79	21,276 (4,46 - 100)	<0,0005
Terapia antiHTA	9,94		
HTA	5,49		
Comorbilidad	4,37		
Antiagregantes	6,14		
ADE	9,15		
CAC	4,81		
FGF-23	4,29		
Fósforo	3,55		
CaxP	3,75	1,210 (1,065 – 1,374)	0,003

ADE: Dispersión de Hematíes; *Para un Intervalo de confianza del 95%.

Variables no incluidas en la ecuación son Sexo, DM, α -Klotho, FG, 25-OH-Vitamina D, PTHi, EFPi, y Estatinas.

Por último en la tabla 41 se muestra el análisis de regresión logística binaria tomando como variable dependiente el IK alto. En el análisis univariante la edad, la presencia de comorbilidades vasculares, fósforo sérico, calcio sérico, CaxP y EFPI se asociaron con un nivel alto de IK. En el análisis multivariante sólo obtuvieron la asociación independiente la edad, el CaxP y la EFPI (decidimos añadir en el análisis multivariante la EFPI porque es uno de los sujetos principales de estudio aunque en el univariante no fuera significativo).

Tabla 41. Regresión Logística Binaria de las variables incluidas en la ecuación con el IK como variable dependiente.

	Score Univariante	Odds Ratio Multivariable*	<i>p</i>
Edad	5,12	1,356 (1,079 – 1,704)	0,009
Comorbilidad	4,11		
Calcio	5,97		
Fósforo	4,43		
CaxP	7,89	1,480 (1,138 – 1,925)	0,003
EFPI	2,44	1,073 (1,004 – 1,146)	0,037

*Para un Intervalo de confianza del 95%. Variables no incluidas en la ecuación son Sexo, DM, α -Klotho, FG, 25-OH-Vitamina D, PTHi, ADE, hábito tabáquico, Terapia antiHTA y CAC. La comorbilidad quedó excluida del multivariante por una $p=0,057$ como “factor protector” de IK alto.

V. DISCUSIÓN



Este estudio fue diseñado para determinar si los parámetros de metabolismo óseo-mineral en general y la excreción fraccionada de fósforo (EFPi) en particular pueden predecir la presencia de calcificación vascular en el paciente con enfermedad renal crónica grado 3.

Durante la pre-selección de candidatos, que se realizó telefónicamente, 21 sujetos rechazaron participar en el estudio. La mayoría de los pacientes que rechazaron fueron de sexo femenino (n=13). Esto puede explicar que la proporción de sexo femenino/masculino de nuestra muestra fuera de 27,5%/72,5%, mientras que la proporción de ERC distribuida por sexos en la población general está descrita en una proporción 35%/65% según el registro español¹¹. Incluso en otros estudios poblacionales la proporción se invierte a favor del sexo femenino como en el estudio EPIRCE que fue de 57%/43%⁹. Esto puede haber causado un sesgo que haga que el sexo no sea significativo a la hora de relacionarse con el CSAA⁴⁰.

En cuanto a la edad y el hábito tabáquico, la media de edad de nuestro estudio fue de 58 años, estando en la mayoría de los estudios el estadio 3 entre 50 y 74 años según el estudio^{9,10}; para el hábito tabáquico (55%) de nuestra población consideramos el haber fumado como factor de riesgo, y este dato es similar a otros estudios con un 56%¹³⁹. En cuanto a la HTA, la DM y la dislipemia los resultados son similares a otros estudios poblacionales, destacando la HTA que como en nuestra serie es una patología muy prevalente en la población renal con un 87.7% en otras series¹³⁹.

En cuanto a la etiología de la ERC, las más prevalentes son las asociadas a los factores de RCV, siendo la Vascular/Isquémica y la nefropatía diabética las más frecuentes como se describe en la literatura¹¹.

La comorbilidad cardiovascular afecta a 18 sujetos de nuestra muestra (22%), siendo la patología más prevalente la coronaria (12%), como sucede en el EPIRCE que representa la 1ª causa en los sujetos con ERC con un 20% seguida muy de cerca de la Enfermedad Vascular Periférica⁹. Los Ictus si son más prevalentes en nuestra población (9%) que la del citado estudio con un 5,6%.

También hubo similitud entre los regímenes terapéuticos antihipertensivos con respecto a otros estudios poblacionales, destacando el uso de ARA II sobre IECAs, siendo más frecuentes los primeros que los segundos en nuestro estudio respecto a las poblaciones de los otros estudios. El uso de calcioantagonistas en nuestra población fue mayor también que el de β -bloqueantes¹³⁹.

En cuanto a antidiabéticos, lo más destacable es que casi el 50% de los sujetos están tratados con ADOs¹³⁹, frente al 21% de nuestra serie, en favor de metformina (47%) y fármacos más modernos (SGLT2 y análogos GLP1).

En el resto de tratamientos cabe destacar un 74% de uso de estatinas, igual al 75% de la literatura¹³⁹, un 36% de pacientes antiagregados, menor que en otros estudios por dejarse de antiagregar a los diabéticos¹³⁹ y un 29% de pacientes tratados con vitamina D (calcifediol), quizás una cifra insuficiente ya que se estima un déficit de vitamina D en torno al 80% de la población renal¹⁴⁰.

La prevalencia de enfermedad arterial periférica clínica definida como presencia de Claudicación Intermitente tras pasar el Cuestionario de Edimburgo fue del 24%, elevada respecto de población general o sólo con diabetes, aunque en la serie de EPIRCE se recoge una prevalencia del 20% para enfermedad vascular periférica⁹.

En cuanto al ITB, el porcentaje de ITB bajo (<0,9) fue del 20% y el de ITB elevado (>1,3) fue del 34%, frente al 13,8% de otras series con ITB bajo y mucho menor (<2%) de ITB alto¹⁴¹.

No hubo diferencias en los datos antropométricos descritos en la tabla 8 con respecto a otros estudios¹³⁹.

Los parámetros hematimétricos y de perfil metabólico no difieren del de otros estudios poblacionales^{10,139,142,143}, salvo los niveles de triglicéridos que son de 190 mg/dL de media en nuestra población, frente al resto de los estudios citados que son inferiores a 150 mg/dL^{10,139,142,143}.

Referente a los parámetros de metabolismo óseo-mineral los valores también fueron similares a los encontrados en la literatura^{129,142,143}. Sin embargo en los casos de FGF-23 y α -Klotho los resultados fueron diferentes. En el caso de FGF-23 los datos obtenidos se ajustaron en general a lo descrito hasta ahora¹⁴⁴, pudiendo haber excepciones en la literatura¹⁴⁵, pero en el caso particular de α -Klotho de nuestra población (0,129 ng/mL) los valores están por debajo de la media descrita que está alrededor de $0,337 \pm 0,132$ ng/mL para ERC grado 3¹⁴⁵.

En relación a los parámetros urinarios más destacados, el CAC de nuestra muestra fue de 102 mg/g de mediana con una importante dispersión. La media fue de 621 mg/g, similar a otros estudios que sitúan dicha media por encima de 300 mg/g^{142,143}. En cuanto a la EFPi, en nuestra población tuvo una media de $35,7 \pm 13,2\%$, mientras que en la literatura hay resultados dispares con un $25 \pm 9\%$ para estadio 3¹⁰⁰ y un $35,8 \pm 11\%$ en otro estudio con 1/3 de estadio 3 y 2/3 estadio 4¹²⁹.

No podemos descartar que esta EFPi más elevada sea debida a un mayor consumo de alimentos que contienen fósforo¹⁴⁶ más que a alteraciones de la excreción renal, ya que no hicimos encuesta de dieta.

Por último, los valores obtenidos con el CSAA y el IK en nuestra población fueron también similares a estudios anteriores para población con ERC grado 3^{129,135,143}.

A continuación realizamos el análisis de las variables de nuestra población para averiguar si establecían alguna relación significativa con el CSAA:

Tal y como cabía esperar, la edad se asoció de forma significativa con el CSAA como ya describe la literatura al relacionar CV y edad¹⁴⁷, pudiendo observarse que la edad de los pacientes con CSAA más bajo era de 54 años, frente a los 61 de los que tenían el CSAA patológico.

Analizando por factores de riesgo vascular clásicos, como la DM, Dislipemia, HTA y el hábito tabáquico, observamos que sólo los dos últimos aparecen asociados de forma significativa con el CSAA. Que el tabaco favorezca la CV es plausible puesto que su relación con la morbilidad cardiovascular es bien conocida, incluso la relación de los fumadores pasivos con la CV con respecto a la población no expuesta se ha establecido¹⁴⁸. Lo mismo sucede con la HTA que suele ser uno de los factores que más se asocian a la presencia de CV¹⁴⁹. Pero además, al analizar el tratamiento que tenían los pacientes, observamos una asociación significativa entre los polimedicados (4 fármacos o más para el control de la HTA) y la CV de dichos pacientes.

Quizás esto traduzca una hipertensión de mayor gravedad, de más larga data o simplemente un efecto de la propia CV que como es bien sabido eleva la PAS, haciéndola más resistente al control farmacológico.

Los motivos por los que los otros 2 factores de RCV clásicos no han tenido esa relación es diferente según el caso.

En primer lugar, la DM no aparece con relación significativa, aunque está relacionada con los mecanismos de calcificación³². Esto quizás se deba a una "n" escasa. Sin embargo se puede apreciar en los resultados que de 30 diabéticos presentes en el estudio 2/3 tenían el CSAA elevado.

En segundo lugar, la dislipemia no se recogió como ítem, pero sí su tratamiento o los valores de las fracciones del colesterol y los triglicéridos de los sujetos. Ni el tratamiento ni los valores de lípidos tuvieron ninguna relación significativa.

Al referirnos a la etiología de la ERC, podemos observar en los resultados una asociación entre la CV y la etiología cuando ésta se relaciona con la patología cardiovascular. Así, la nefropatía diabética y la causa Vascular/Isquémica muestra una clara tendencia hacia la CV, frente al resto de causas, como era plausible dada la estrecha relación entre patología cardiovascular y CV³⁵.

En cuanto al grado de FG, como describíamos en la introducción, se trata de

un factor de RCV intrínseco de los pacientes renales¹⁸⁻²⁰. Al realizar el análisis de nuestra muestra no observamos relación entre la tasa de FG medida por CKD-EPI frente a la CV medida mediante CSAA. Esto probablemente se deba a que tenemos un rango muy recortado de FG, ciñéndonos sólo al estadio 3, con lo que las diferencias exigirían una muestra mayor.

En referencia a la comorbilidad, observamos que existe una relación significativa con el CSAA. El hecho de que la CV se relacione directamente con la morbi-mortalidad cardiovascular¹⁵⁰ hace que nos sirva para predecirla al medirla, como era lógico.

Siguiendo con los tratamientos, además de observar relación de la politerapia en el tratamiento de la HTA con el CSAA, también observamos una relación significativa entre la toma de antiagregantes y el CSAA. Pensamos que esto se debe a que aquellos que reciben antiagregantes son los que han tenido eventos cardiovasculares que se asocia a la CV y a tener un CSAA patológico.

Otro asunto es la relación entre la toma de carbonato cálcico y el CSAA. Sólo 4 sujetos estaban tomando calcio oral (dosis de 500 mg de calcio elemento) con indicación de tratamiento por osteoporosis. Sabemos que el calcio oral puede favorecer la CV y que por ello las guías de tratamiento del HPTS recomiendan limitar el uso de calcio elemento por debajo de 2 g/día⁷ o incluso 1 g/día¹⁵¹. Por ello limitamos la dosis máxima a 500 mg/día en el estudio. Sin embargo la osteoporosis se relaciona cada vez más con la CV¹⁵² y en particular la DMOM desde estadios precoces de la ERC ejerce influencia tanto en el vaso como en el hueso^{98,153} lo que explica que un diagnóstico de osteoporosis pueda llevar soterrado un problema de CV en el paciente con ERC.

En nuestra serie, 19 sujetos (24%) presentan clínica de Claudicación Intermitente, pero a pesar de esta prevalencia elevada no se asocia con la CSAA, al igual que tampoco lo hace el ITB. Debido a estos resultados decidimos comparar el ITB con los valores del CSAA referidos al tercio inferior (zona de bifurcación de las ilíacas, ver Tabla 20), contrastando el ITB con el CSAA inferior dividido en 3 terciles de afectación (tabla 30). Aquí la relación fue significativa ($p=0,02$).

Por lo que parece un ITB bajo se asociaba claramente al tercil superior de

calcificación en esta región, teniendo cierta lógica ya que estamos observando las arterias ilíacas. Otros estudios han relacionado la CV con el ITB $>1,3$ ^{141,154}, pero en nuestro caso no ha sido así quizás probablemente por tener un grado de FG menos avanzado. Pero la propia CV puede hacer que pacientes con EAPO clínica evidente tengan un ITB $>0,9$ ^{155,156}, por lo que la presencia de ambas entidades, CV y EAPO, pueden causar falsos negativos en el uso del ITB para el diagnóstico de una de ellas.

Sí hubo, como observamos en la tabla 31, relación significativa entre el ITB y la Claudicación Intermitente como podíamos esperar dado el uso de ambos para el diagnóstico de la EAPO¹⁵⁶.

No hubo relación significativa entre el IMC y el perímetro abdominal con las cifras de CSAA de los sujetos. Sin embargo si se ha descrito en población diabética joven (Edad <18 años)¹⁵⁷.

La Dispersión de Hematíes o Amplitud de Distribución Eritrocitaria (ADE) es usada habitualmente para el diagnóstico diferencial de las anemias carenciales, bien por hierro, fólico o B12. Unas cifras altas de ADE indican que aunque la media del tamaño de los eritrocitos pueda ser normal, existe mucha variedad en los tamaños (desviación típica elevada), lo que ayuda en el diagnóstico diferencial de las anemias¹⁵⁸. Los primeros autores en relacionar este parámetro con la patología cardiovascular fueron Felker y Cols¹⁵⁹ en 2007 que observaron que el nivel elevado de ADE tenía un fuerte valor predictivo de morbi-mortalidad en población con IC. Posteriores revisiones la han relacionado con el síndrome coronario agudo, el ictus, la enfermedad arterial periférica, la fibrilación auricular, la IC¹⁶⁰, con la mortalidad en la ERC¹⁶¹ y con la calcificación vascular¹⁶². Aunque la patogénesis de dicha relación sigue siendo desconocida, se ha especulado que el ADE traduce un mayor fondo inflamatorio¹⁶³

Los parámetros que hemos usado para valorar la proteinuria han sido el CAC y la proteinuria en orina de 24 horas. Ambas muestran una relación significativa con la CV medida con el CSAA. Estos resultados son congruentes con lo descrito en la literatura, pues se sabe que la albuminuria desde los primeros inicios se relaciona con un aumento del riesgo cardiovascular^{20-22,24}.

Para finalizar, también estudiamos parámetros del metabolismo óseo-mineral y su relación con el CSAA. Inicialmente sólo encontramos asociación significativa de FGF-23 con el CSAA, siendo negativa para el Calcio, Fósforo, Producto Calcio-Fósforo (CaxP), 25-OH-Vitamina D, PTHi, EFPi y α -Klotho, aunque tanto el fósforo como el CaxP tienden a estar más elevados en el grupo con CSAA más alto sin llegar a la significación ($p = 0.061$ y $p = 0.054$, respectivamente)..

Cuando usamos el Índice Kaupila (IK) como referencia, comparando sujetos con el IK bajo (0-4) frente a sujetos con IK alto (5-24) observamos como el fósforo, el calcio y el CaxP sí tienen una asociación significativa en aquellos sujetos con IK alto. En el caso de la EFPi elevada no llega a ser significativo pero sí marca una tendencia a dicha significación ($p=0,08$). El resto de parámetros del metabolismo fosfo-cálcico no tuvieron relación significativa alguna.

Pese a que existe una magnífica correlación entre el IK y CSAA (R de Pearson 0.87, $p < 0.05$), existen diferencias marcadas entre los factores que se asocian con ambas formas de cuantificar el grado de CV. Además de la asociación estrecha entre índices del metabolismo fosfo-cálcico con el IK arriba mencionados, llama la atención que la presencia de comorbilidades vasculares de origen arteriosclerótico están asociadas significativamente con la cuantificación de la CV cuando se mide por TC (CSAA), pero no cuando se mide con radiología convencional (IK).

En la literatura, la mayoría de los estudios en pacientes con ERC en los que se estudia la CV mediante TC lo hacen en pacientes en estadios avanzados o en TRS¹⁶⁴⁻¹⁶⁷. Menos estudios, por el contrario, utilizan técnicas de radiología convencional como el IK⁵⁶ y el Índice de Adragao⁵⁹. El hecho de que en nuestro estudio no encontremos una asociación entre el IK y la comorbilidad cardiovascular es algo que no debe sorprender ya que el mismo hallazgo se ha descrito ya en la literatura para pacientes en estadios 3-5 que no han precisado TRS¹⁶⁸.

El objetivo principal del estudio era comprobar si el EFPi está asociado con la CV medida mediante el CSAA. Por ello, es importante resaltar que los valores de EFPi de nuestra población eran más elevados de lo que cabría esperar cuando los comparamos con estudios similares descritos en la literatura ($36 \pm 13\%$ vs $25 \pm 9\%$)¹⁰⁰.

La EFPi está condicionada por la ingesta de fósforo en la dieta¹⁴⁶ y por hor-

monas que estimulen la eliminación del fósforo como FGF-23^{92,169}. En la literatura está bien acreditada la relación entre niveles bajos de EFPI y CV^{128,129}, pero no de forma aislada sino en relación con FGF-23. Parece que aquellas personas resistentes al efecto de FGF-23 a la hora de eliminar fósforo (FGF-23 elevado con EFPI baja) tienen mayor propensión a la CV^{128,129}. Pero el siguiente subgrupo que más RCV presenta es el que tiene FGF-23 y EFPI elevado¹²⁸. Por este motivo, como se aprecia en la tabla 38, subdividimos la población para comprobar si hallábamos correspondencia en la población de nuestro estudio tal y como se describe en la literatura, pero no se observaron diferencias significativas en el grado de CV entre los distintos subgrupos. Sólo mencionar que en el caso del subgrupo con mayor riesgo de CV (FGF-23 elevado y EFPI bajo) el número de sujetos con CSAA elevado fue casi el doble (n=15) frente a aquellos que presentaron CSAA bajo (n=8), lo que señala que quizás con una muestra mayor pudiera llegar a la significación.

Siendo Klotho la proteína transmembrana que regula la afinidad de FGF-23⁹² por su receptor, medimos los niveles de su forma soluble (α -Klotho). Aunque α -Klotho se ha relacionado con la CV^{107,109}, en nuestra serie de pacientes no encontramos esta asociación con el grado de CV medido mediante TC ni mediante radiología convencional. Además, al comparar nuestros valores medios de $0,129 \pm 0,108$ ng/mL con los publicados en sujetos con ERC observamos una importante variabilidad. Para Kanda y cols¹⁷⁰ en sujetos en estadio 4-5 la media de α -Klotho fue $0,509 \pm 0,147$ ng/mL, mientras que para Tanaka y cols¹⁴⁵ las cifras se mueven para estadio 3a en $0,337 \pm 0,132$ ng/mL y para estadio 3b en $0,316 \pm 0,136$ ng/mL. El hecho que los niveles plasmáticos de α -Klotho sean bajos no tiene por qué implicar un descenso de Klotho en el tejido renal, aunque apunta a que probablemente así lo sea y que debería relacionarse con la afectación vascular¹⁷¹.

Dada la relación entre EFPI y α -Klotho, decidimos analizar la relación de ambas variables con el CSAA, y dividir nuestra población en 4 subgrupos cruzando los niveles alto y bajo (por encima o por debajo de la mediana) de α -Klotho con niveles alto y bajo de EFPI.

El resultado fue que no apreciamos ninguna relación significativa de ninguno de los subgrupos con el grado de CV medido mediante TC. Sí apreciamos que el subgrupo de pacientes con α -Klotho bajo y EFPI alto (n=15) es el que proporcionalmente más CV presenta respecto al resto (11 de los sujetos presentaron CSAA

patológico frente a 4). Y tiene su lógica en cuanto a que niveles bajos de α -Klotho nos advierten que el tejido renal probablemente sea menos sensible al estímulo fosfatúrico, y que el hecho de que sin embargo la EFPI sea elevada en ese grupo se deba a que la capacidad de eliminación del fósforo está saturada y que probablemente el exceso de CV se deba a una incapacidad para eliminar todo el fósforo que aporta la ingesta. No obstante, puesto que no se realizó un registro dietético de los sujetos es una mera hipótesis no comprobable.

En cualquier caso, el hecho de que nuestra población tenga unos niveles especialmente bajos de α -Klotho hace que debamos tomarnos estos datos con prudencia y seguir realizando más estudios para comprobar esta tendencia.

Por último, al realizar la regresión logística para ambos métodos de medición de CV comprobamos las siguientes relaciones:

En el caso del CSAA, en el análisis univariante la edad, el hábito tabáquico, la hipertensión arterial, la terapia hipotensora, la presencia de comorbilidades vasculares, el ADE, el CAC y el FGF-23, se asociaron con un nivel patológico de CSAA. Pero al realizar el análisis multivariante, en el que añadimos el fósforo sérico y el CaxP debido a que tenían valores cercanos a la significación, sólo permanecieron significativos la edad, el hábito tabáquico y el CaxP. En el caso del CaxP y del Fósforo al realizar la regresión logística salen con relación significativa con el CSAA junto con la edad y el consumo de tabaco, pero nos quedamos con el CaxP porque en el Univariante tenía una mayor relación como se muestra en la tabla 33.

El hecho de que sea el CaxP y no el fósforo o FGF-23 los parámetros que obtengan una relación significativa en el multivariante puede venir determinado por varios factores. En primer lugar sabemos que el fósforo cuanto más bajo esté mejor ya que puede influir tanto en la progresión de la ERC¹⁷², como en la aparición de la CV⁸⁶ y en la morbi-mortalidad cardiovascular^{84,85} de nuestros pacientes e incluso de la población general⁸⁷. Así que, cualquier parámetro que lo incluya nos va a dar un resultado con significación probablemente. Y en segundo lugar, aunque en los enfermos renales los valores de calcio plasmático sea importante que no se eleven por encima de cierto rango⁷, es evidente que cuanto mayor sea el nivel de calcio plasmático, aunque sea dentro del rango de la normalidad, mayor tendencia a la CV habrá como ya se ha demostrado¹⁷³.

Lo que se refleja en que sea el CaxP (una variable que agrupa realmente a dos) y no el Fósforo aislado el valor que en nuestro estudio tenga mayor significación en el estudio multivariante. Sin embargo, las guías de consenso de tratamiento de los pacientes con DMOM no recomiendan usar el CaxP para tomar decisiones terapéuticas, sino el Calcio y el Fósforo por separado⁷ con idea de tomar medidas específicas para cada uno de ellos. En el caso de FGF-23 sería un marcador de aviso de que dicho sujeto está teniendo problemas para manejar el fósforo de su dieta habitual por lo que nos es útil su uso, siendo la EFPI su reflejo teórico aunque en nuestro caso no obtengamos dicha relación significativa probablemente por falta de muestra.

Cuando tomamos como variable dependiente el IK, encontramos en el estudio univariante asociación con las variables del metabolismo calcio-fósforo (Calcio, Fósforo, CaxP y EFPI), la edad y la Comorbilidad (que sorprendentemente se presenta con una relación inversa paradójica). Al realizar el análisis multivariante nos quedamos con la Edad, el CaxP, y EFPI, quedando por muy poco excluida la comorbilidad como factor protector de IK alto con una $p=0,057$.

Lo que nos revela la regresión de ambos métodos de medición de CV es parecido a lo que ya apuntaba el análisis univariante. Y es que parece que el CSAA es más sensible en nuestra población para detectar CV que se relaciona con RCV (tabaquismo, y por escaso margen no logra con ADE, CAC y comorbilidad), frente al IK que lo hace principalmente con los parámetros de metabolismo óseo-mineral (CaxP y EFPI).

Esto nos hace pensar que pudiera ser que en sujetos con ERC estadio 3 que presentan niveles elevados de CV medido mediante IK lo hacen a expensas, principalmente, de la calcificación de la capa media con escasa repercusión en la placa de ateroma (no se refleja el nivel de calcio medido con el grado de enfermedad vascular aterosclerótica relacionado con la comorbilidad ya presente en los sujetos del estudio).

En el caso del CSAA la CV elevada si se relaciona con dicha comorbilidad aunque no llegue a mantener la significación en el análisis multivariante. En otros estudios a veces no encuentran relación clara entre la CV medida mediante TC y

la enfermedad cardiovascular. Esta discordancia se aprecia en los estudios con sujetos con ERC más avanzada (estadios 4-5, diálisis o trasplantados renales) como describe Bashir y cols⁷³.

Sin embargo, en otros estudios con pacientes con ERC estadio 3 si se aprecia claramente la relación entre el grado de CV y la comorbilidad cardiovascular previa de los sujetos como muestra el estudio de He y cols⁷⁵. Por este motivo probablemente es que en el análisis univariante del CSAA se aprecie que son factores de RCV clásicos los que se relacionan con él, incluyendo también los parámetros de la DMOM, por lo que dicho método mide no sólo CV de la media, sino CV referida a enfermedad de la placa de ateroma.

Por el contrario, en el IK parece que se relaciona principalmente con variables que influyen en la CV de la media (edad y la DMOM)⁴⁸. Y aunque en la literatura se describe la relación del IK con el aumento del riesgo cardiovascular, la mayoría de los estudios están realizados en pacientes en diálisis^{77,138} o en personas de edad avanzada^{174,175}. Así puede explicarse que en sujetos de edad media no demasiado avanzada o que no tienen un estadio avanzado renal, como los de nuestro estudio, no se relacione la enfermedad cardiovascular ya presente en ellos con el IK.

Esto nos puede llevar a tomar con precaución el uso de la Radiología Convencional para medir la CV como indicador de RCV. Por este motivo, y aunque con la EFPI si obtenemos una relación estadísticamente significativa con el IK, no podemos concluir con seguridad que ésta pueda sernos de utilidad para predecir el RCV. Aunque probablemente con una muestra más extensa quizá podríamos haberlo logrado con el CSAA.

No obstante será necesario comprobar esta posible tendencia en estudios cuya muestra sea más amplia para obtener resultados más significativos al realizar la regresión logística multivariante.



VI. CONCLUSIONES



A la luz de los datos obtenidos en nuestro estudio, podemos concretar las siguientes reflexiones:

- La EFPi no se asocia con el grado de CV medida mediante CSAA en nuestra población.
- La Edad, el hábito tabáquico y el CaxP son los parámetros que de forma independiente se asociaron con la CV de la aorta abdominal medida por TC.
- La CV de la aorta abdominal cuantificada por radiografía convencional (IK) está asociada de forma significativa con la edad y algunas variables del metabolismo fosfo-cálcico, entre ellos la EFPi; mientras que las comorbilidades cardiovasculares de los sujetos del estudio no se asociaron con el IK.







VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JF. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation*. 2007;116(1):85-97.
2. Soriano Cabrera S HAL. Procedimiento diagnóstico y valoración del enfermo con insuficiencia renal crónica. In: *Nefrología Clínica*. Vol 24. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2009:17-20.
3. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama*. 2003;289(19):2560-2572.
4. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens*. 2003;21(6):1011-1053.
5. Pletcher MJ, Tice JA, Pignone M, Browner WS. Using the coronary artery calcium score to predict coronary heart disease events: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2004;164(12):1285-1292.
6. Russo D, Palmiero G, De Blasio AP, Balletta MM, Andreucci VE. Coronary artery calcification in patients with CRF not undergoing dialysis. *Am J Kidney Dis*. 2004;44(6):1024-1030.
7. Andrassy KM. Comments on 'KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease'. In: *Kidney Int*. Vol 84. United

- States 2013;622-623.
8. Whaley-Connell AT, Sowers JR, Stevens LA, et al. CKD in the United States: Kidney Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004. *Am J Kidney Dis.* 2008;51(4 Suppl 2):S13-20.
 9. Otero A, de Francisco A, Gayoso P, Garcia F. Prevalence of chronic renal disease in Spain: results of the EPIRCE study. *Nefrologia.* 2010;30(1):78-86.
 10. Sanchez-Chaparro MA, Calvo-Bonacho E, Gonzalez-Quintela A, et al. Estimating the glomerular filtration rate in the Spanish working population: chronic kidney disease prevalence and its association with risk factors. *J Hypertens.* 2014;32(10):1970-1978; discussion 1978.
 11. Martin Escobar E. The Spanish Renal Registry: 2013 report and evolution from 2007-2013. *Nefrologia.* 2016;36(2):97-120.
 12. Soriano Cabrera S HAL. Procedimiento diagnostico y valoracion del enfermo con insuficiencia renal cronica. In: *Nefrologia Clinica. Tercera Edicion ed.* Madrid: Medica Panamericana; 2009:801-804.
 13. Praga-Terente M. Causas de insuficiencia renal crónica y sus mecanismos de progresión. In: *Nefrología Clínica.* Madrid: Editorial Panamericana; 2008.
 14. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006;354(23):2473-2483.
 15. National Collaborating Centre for Chronic C. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. In: *Chronic Kidney Disease: National Clinical Guideline for Early Identification and Management in Adults in Primary and Secondary Care.* London: Royal College of Physicians (UK) Royal College of Physicians of London.; 2008.
 16. Quiroga B R-PJ, de-Arriba G. Insuficiencia Renal Crónica. *Medicine.* 2015;11(81):4860-4867.
 17. Gorostidi M, Santamaria R, Alcazar R, et al. Spanish Society of Nephrology document on KDIGO guidelines for the assessment and treatment of chronic kidney disease. *Nefrologia.* 2014;34(3):302-316.
 18. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130(6):461-470.
 19. Solomon SD, Rice MM, K AJ, et al. Renal function and effectiveness of angiotensin-con-

- verting enzyme inhibitor therapy in patients with chronic stable coronary disease in the Prevention of Events with ACE inhibition (PEACE) trial. *Circulation*. 2006;114(1):26-31.
20. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9731):2073-2081.
 21. Grimm RH, Jr., Svendsen KH, Kasiske B, Keane WF, Wahi MM. Proteinuria is a risk factor for mortality over 10 years of follow-up. MRFIT Research Group. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Kidney Int Suppl*. 1997;63:S10-14.
 22. Keane WF, Eknoyan G. Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): a position paper of the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis*. 1999;33(5):1004-1010.
 23. de Zeeuw D, Remuzzi G, Parving HH, et al. Albuminuria, a therapeutic target for cardiovascular protection in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Circulation*. 2004;110(8):921-927.
 24. Mann JF, Yi QL, Gerstein HC. Albuminuria as a predictor of cardiovascular and renal outcomes in people with known atherosclerotic cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl*. 2004(92):S59-62.
 25. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, et al. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation*. 2002;106(14):1777-1782.
 26. Oliva-Damaso E R-PJ. Abordaje Temprano de los Trastornos Cardiovasculares en el Paciente con Enfermedad Renal Crónica. In: *Monografías en Enfermedad Renal Crónica 1*. Madrid: Grupoaccionmedica; 2012:44-51.
 27. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. Impact of hypertension on cardiomyopathy, morbidity and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int*. 1996;49(5):1379-1385.
 28. Chen J, Hamm LL, Mohler ER, et al. Interrelationship of Multiple Endothelial Dysfunction Biomarkers with Chronic Kidney Disease. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132047.
 29. Peter K, Weirich U, Nordt TK, Ruef J, Bode C. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) as potential marker of atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 1999;82 Suppl 1:38-43.
 30. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association

- Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2003;108(17):2154-2169.
31. Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications. *Circ Res*. 2006;99(10):1044-1059.
 32. Karwowski W, Naumnik B, Szczepanski M, Mysliwiec M. The mechanism of vascular calcification - a systematic review. *Med Sci Monit*. 2012;18(1):RA1-RA11.
 33. Valdivielso JM. [Vascular calcification: types and mechanisms]. *Nefrologia*. 2011;31(2):142-147.
 34. JG M. Ueber die reine Mediaverlakalkung der Extremitätenarterien und ihr Verhalten zur Arteriosklerose. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 171:141-167.
 35. Ehara S, Kobayashi Y, Yoshiyama M, et al. Spotty calcification typifies the culprit plaque in patients with acute myocardial infarction: an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2004;110(22):3424-3429.
 36. Raggi P, Bellasi A, Ferramosca E, Islam T, Muntner P, Block GA. Association of pulse wave velocity with vascular and valvular calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2007;71(8):802-807.
 37. Wilson PW, Kauppila LI, O'Donnell CJ, et al. Abdominal aortic calcific deposits are an important predictor of vascular morbidity and mortality. *Circulation*. 2001;103(11):1529-1534.
 38. Wayhs R, Zelinger A, Raggi P. High coronary artery calcium scores pose an extremely elevated risk for hard events. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(2):225-230.
 39. Bild DE, Detrano R, Peterson D, et al. Ethnic differences in coronary calcification: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Circulation*. 2005;111(10):1313-1320.
 40. Ellison RC, Zhang Y, Wagenknecht LE, et al. Relation of the metabolic syndrome to calcified atherosclerotic plaque in the coronary arteries and aorta. *Am J Cardiol*. 2005;95(10):1180-1186.
 41. Fujiyoshi A, Miura K, Ohkubo T, et al. Cross-sectional comparison of coronary artery calcium scores between Caucasian men in the United States and Japanese men in Japan: the multi-ethnic study of atherosclerosis and the Shiga epidemiological study of sub-clinical atherosclerosis. *Am J Epidemiol*. 2014;180(6):590-598.
 42. Chia PL, Earnest A, Lee R, et al. Coronary artery calcification across ethnic groups in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 2013;42(9):432-436.
 43. Sorensen MH, Gerke O, Lambrechtsen J, et al. Changes in medical treatment six months

- after risk stratification with HeartScore and coronary artery calcification scanning of healthy middle-aged subjects. *Eur J Prev Cardiol.* 2012;19(6):1496-1502.
44. Fernandez-Ortiz A, Jimenez-Borreguero LJ, Penalvo JL, et al. The Progression and Early detection of Subclinical Atherosclerosis (PESA) study: rationale and design. *Am Heart J.* 2013;166(6):990-998.
 45. Fernandez-Friera L, Penalvo JL, Fernandez-Ortiz A, et al. Prevalence, Vascular Distribution, and Multiterritorial Extent of Subclinical Atherosclerosis in a Middle-Aged Cohort: The PESA (Progression of Early Subclinical Atherosclerosis) Study. *Circulation.* 2015;131(24):2104-2113.
 46. Liberman M, Pesaro AE, Carmo LS, Serrano Jr CV. Vascular calcification: pathophysiology and clinical implications. *Einstein (Sao Paulo).* 2013;11(3):376-382.
 47. Tolle M, Reshetnik A, Schuchardt M, Hohne M, van der Giet M. Arteriosclerosis and vascular calcification: causes, clinical assessment and therapy. *Eur J Clin Invest.* 2015;45(9):976-985.
 48. Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, et al. Medial vascular calcification revisited: review and perspectives. *Eur Heart J.* 2014;35(23):1515-1525.
 49. Thompson B, Towler DA. Arterial calcification and bone physiology: role of the bone-vascular axis. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(9):529-543.
 50. Otsuka F, Sakakura K, Yahagi K, Joner M, Virmani R. Has our understanding of calcification in human coronary atherosclerosis progressed? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(4):724-736.
 51. Moe SM, O'Neill KD, Duan D, et al. Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. *Kidney Int.* 2002;61(2):638-647.
 52. Yamada S, Giachelli CM. Vascular calcification in CKD-MBD: Roles for phosphate, FGF23, and Klotho. *Bone.* 2016.
 53. Tullos BW, Center UoMM, Sung JH, et al. Ankle-brachial index (ABI), abdominal aortic calcification (AAC), and coronary artery calcification (CAC): the Jackson heart study. *The International Journal of Cardiovascular Imaging.* 2013;29(4):891-897.
 54. Insa F. Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen Mediasklerose und diabetischer Neuropathie bei Patienten mit Diabetes mellitus. Bremen 2006.
 55. Honkanen E, Kauppila L, Wikstrom B, et al. Abdominal aortic calcification in dialysis patients: results of the CORD study. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(12):4009-4015.
 56. Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW. New indices to classify

- location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study. *Atherosclerosis*. 1997;132(2):245-250.
57. Peeters MJ, van den Brand JA, van Zuilen AD, et al. Abdominal aortic calcification in patients with CKD. *J Nephrol*. 2016.
 58. Bellasi A, Ferramosca E, Muntner P, et al. Correlation of simple imaging tests and coronary artery calcium measured by computed tomography in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2006;70(9):1623-1628.
 59. Adragao T, Pires A, Lucas C, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. 2004.
 60. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74(6):1399-1406.
 61. Flore R, Ponziani FR, Tinelli G, et al. New modalities of ultrasound-based intima-media thickness, arterial stiffness and non-coronary vascular calcifications detection to assess cardiovascular risk. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(8):1430-1441.
 62. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M, Detrano R. American College of Cardiology Foundation | Journal of the American College of Cardiology | Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *Am Coll Cardiol*. 1990;15:827-832.
 63. An C, Lee HJ, Lee HS, et al. CT-based abdominal aortic calcification score as a surrogate marker for predicting the presence of asymptomatic coronary artery disease. *Eur Radiol*. 2014;24(10):2491-2498.
 64. Nandalur KR, Baskurt E, Hagspiel KD, et al. Carotid artery calcification on CT may independently predict stroke risk. *AJR Am J Roentgenol*. 2006;186(2):547-552.
 65. de Rotte AA, Koning W, Truijman MT, et al. Seven-tesla magnetic resonance imaging of atherosclerotic plaque in the significantly stenosed carotid artery: a feasibility study. *Invest Radiol*. 2014;49(11):749-757.
 66. Joseph P, Tawakol A. Imaging atherosclerosis with positron emission tomography. *Eur Heart J*. 2016.
 67. Wheeler EC, Brenner ZR. Peripheral vascular anatomy, physiology, and pathophysiology. *AACN Clin Issues*. 1995;6(4):505-514.
 68. Soldatos G, Jandeleit-Dahm K, Thomson H, et al. Large artery biomechanics and diastolic dysfunction in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2011;28(1):54-60.

69. London GM. Cardiovascular disease in chronic renal failure: pathophysiologic aspects. *Semin Dial.* 2003;16(2):85-94.
70. Chuang ML, Massaro JM, Levitzky YS, et al. Prevalence and distribution of abdominal aortic calcium by gender and age group in a community-based cohort (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 2012;110(6):891-896.
71. Bastos Goncalves F, Voute MT, Hoeks SE, et al. Calcification of the abdominal aorta as an independent predictor of cardiovascular events: a meta-analysis. *Heart.* 2012;98(13):988-994.
72. Roy SK, Cespedes A, Li D, Choi TY, Budoff MJ. Mild and moderate pre-dialysis chronic kidney disease is associated with increased coronary artery calcium. *Vasc Health Risk Manag.* 2011;7:719-724.
73. Bashir A, Moody WE, Edwards NC, Ferro CJ, Townend JN, Steeds RP. Coronary Artery Calcium Assessment in CKD: Utility in Cardiovascular Disease Risk Assessment and Treatment? *Am J Kidney Dis.* 2015;65(6):937-948.
74. Gaubeta S, Klinghammer L, Jahn D, Schuhback A, Achenbach S, Marwan M. Epicardial fat and coronary artery calcification in patients on long-term hemodialysis. *J Comput Assist Tomogr.* 2014;38(5):768-772.
75. He J, Reilly M, Yang W, et al. Risk factors for coronary artery calcium among patients with chronic kidney disease (from the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study). *Am J Cardiol.* 2012;110(12):1735-1741.
76. Pencak P, Czerwienka B, Ficek R, et al. Calcification of coronary arteries and abdominal aorta in relation to traditional and novel risk factors of atherosclerosis in hemodialysis patients. *BMC Nephrol.* 2013;14:10.
77. Okuno S, Ishimura E, Kitatani K, et al. Presence of abdominal aortic calcification is significantly associated with all-cause and cardiovascular mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2007;49(3):417-425.
78. Cecelja M, Frost ML, Spector TD, Chowienczyk P. Abdominal aortic calcification detection using dual-energy X-ray absorptiometry: validation study in healthy women compared to computed tomography. *Calcif Tissue Int.* 2013;92(6):495-500.
79. Kabaya T, Nitta K, Kimura H, Kawashima A, Narusawa K, Nihei H. Increased aortic calcification index in hemodialysis patients. In: *Nephron.* Vol 81. Switzerland 1999:354-355.
80. Kimura K, Saika Y, Otani H, Fujii R, Mune M, Yukawa S. Factors associated with calcification of the abdominal aorta in hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl.* 1999;71:S238-

- 241.
81. Taniwaki H, Ishimura E, Tabata T, et al. Aortic calcification in haemodialysis patients with diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(11):2472-2478.
 82. Ichii M, Ishimura E, Shima H, et al. Quantitative analysis of abdominal aortic calcification in CKD patients without dialysis therapy by use of the Agatston score. *Kidney Blood Press Res*. 2013;38(2-3):196-204.
 83. Takayama Y, Yasuda Y, Suzuki S, et al. Relationship between abdominal aortic and coronary artery calcification as detected by computed tomography in chronic kidney disease patients. *Heart Vessels*. 2016;31(7):1030-1037.
 84. Stevens LA, Djurdjev O, Cardew S, Cameron EC, Levin A. Calcium, phosphate, and parathyroid hormone levels in combination and as a function of dialysis duration predict mortality: evidence for the complexity of the association between mineral metabolism and outcomes. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(3):770-779.
 85. Palmer SC, Hayen A, Macaskill P, et al. Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Jama*. 2011;305(11):1119-1127.
 86. Adeney KL, Siscovick DS, Ix JH, et al. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(2):381-387.
 87. Park KS, Park J, Choi SH, et al. Serum Phosphorus Concentration and Coronary Artery Calcification in Subjects without Renal Dysfunction. *PLoS One*. 2016;11(3):e0151007.
 88. Amiri FS. Contemporary management of phosphorus retention in chronic kidney disease: a review. *Clin Exp Nephrol*. 2015;19(6):985-999.
 89. Donate-Correa J, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernandez C, Navarro-Gonzalez JF. FGF23/Klotho axis: phosphorus, mineral metabolism and beyond. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2012;23(1-2):37-46.
 90. Riminucci M, Collins MT, Fedarko NS, et al. FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting. *J Clin Invest*. 2003;112(5):683-692.
 91. Pereira RC, Juppner H, Azucena-Serrano CE, Yadin O, Salusky IB, Wesseling-Perry K. Patterns of FGF-23, DMP1, and MEPE expression in patients with chronic kidney disease. *Bone*. 2009;45(6):1161-1168.
 92. Nitta K, Nagano N, Tsuchiya K. Fibroblast growth factor 23/klotho axis in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract*. 2014;128(1-2):1-10.
 93. Erben RG, Andrukhova O. FGF23-Klotho signaling axis in the kidney. *Bone*. 2016.

94. Seldin DW GG. Renal regulation of phosphate excretion. In: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. New York: Raven Press; 1996:2511-2532.
95. Shimamura Y, Hamada K, Inoue K, et al. Serum levels of soluble secreted alpha-Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis. *Clin Exp Nephrol*. 2012;16(5):722-729.
96. Lindberg K, Amin R, Moe OW, et al. The kidney is the principal organ mediating klotho effects. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(10):2169-2175.
97. Gonzalez-Alvarez M, Valdivielso-Revilla J. Visión integrada de las alteraciones del metabolismo óseo y mineral en diálisis. In: *Monografías en Enfermedad Renal Crónica 1*. Madrid: Grupoaccionmedica; 2012:56-60.
98. Babayev R, Nickolas TL. Bone Disorders in Chronic Kidney Disease: An Update in Diagnosis and Management. *Semin Dial*. 2015;28(6):645-653.
99. Wolisi GO, Moe SM. The role of vitamin D in vascular calcification in chronic kidney disease. *Semin Dial*. 2005;18(4):307-314.
100. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011;79(12):1370-1378.
101. Faul C, Amaral AP, Oskoue B, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4393-4408.
102. Grabner A, Amaral AP, Schramm K, et al. Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metab*. 2015;22(6):1020-1032.
103. Jimbo R, Shimomura T. Cardiovascular Risk Factors and Chronic Kidney Disease-FGF23: A Key Molecule in the Cardiovascular Disease. *Int J Hypertens*. 2014;2014:381082. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/381082>.
104. Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, et al. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int*. 2013;83(6):1159-1168.
105. Zhu D, Mackenzie NC, Millan JL, Farquharson C, MacRae VE. A protective role for FGF-23 in local defence against disrupted arterial wall integrity? *Mol Cell Endocrinol*. 2013;372(1-2):1-11.
106. Jimbo R, Kawakami-Mori F, Mu S, et al. Fibroblast growth factor 23 accelerates phosphate-induced vascular calcification in the absence of Klotho deficiency. *Kidney Int*. 2014;85(5):1103-1111.
107. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a

- syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997;390(6655):45-51.
108. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, et al. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest*. 2004;113(4):561-568.
 109. Hu MC, Shi M, Zhang J, et al. Klotho Deficiency Causes Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(1):124-136.
 110. Wolf MT, An SW, Nie M, Bal MS, Huang CL. Klotho up-regulates renal calcium channel transient receptor potential vanilloid 5 (TRPV5) by intra- and extracellular N-glycosylation-dependent mechanisms. *J Biol Chem*. 2014;289(52):35849-35857.
 111. Lindberg K, Olauson H, Amin R, et al. Arterial klotho expression and FGF23 effects on vascular calcification and function. *PLoS One*. 2013;8(4):e60658.
 112. Zhao Y, Zhao MM, Cai Y, et al. Mammalian target of rapamycin signaling inhibition ameliorates vascular calcification via Klotho upregulation. *Kidney Int*. 2015;88(4):711-721.
 113. Giachelli CM. The Emerging Role of Phosphate in Vascular Calcification. *Kidney Int*. 2009;75(9):890-897.
 114. Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 2007;167(16):1730-1737.
 115. Torralba-Iranzo F, Vila PM. Alteraciones Precoces en el metabolismo óseo-mineral. In: *Monografías en Enfermedad Renal Crónica 1*. Madrid: Grupoaccionmedica; 2012:32-43.
 116. Torregrosa JV, Bover J, Cannata Andia J. Spanish Society of Nephrology recommendations for controlling mineral and bone disorder in chronic kidney disease patients (S.E.N.-M.B.D.). Introduction. *Nefrologia*. 2011;31 Suppl 1:1-2.
 117. Donate-Correa J, Dominguez-Pimentel V, Muros-de-Fuentes M, et al. Beneficial effects of selective vitamin D receptor activation by paricalcitol in chronic kidney disease. *Curr Drug Targets*. 2014;15(7):703-709.
 118. Zhang Q, Li M, You L, et al. Effects and safety of calcimimetics in end stage renal disease patients with secondary hyperparathyroidism: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(10):e48070.
 119. Lenglet A, Liabeuf S, El Esper N, et al. Efficacy and safety of nicotinamide in haemodialysis patients: the NICOREN study. *Nephrol Dial Transplant*. 2016.
 120. Isakova T, Ix JH, Sprague SM, et al. Rationale and Approaches to Phosphate and Fibroblast Growth Factor 23 Reduction in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(10):2328-2339.
 121. Shalhoub V, Shatzen EM, Ward SC, et al. FGF23 neutralization improves chronic kid-

- ney disease-associated hyperparathyroidism yet increases mortality. *J Clin Invest.* 2012;122(7):2543-2553.
122. Gonzalez-Parra E, Gonzalez-Casaus ML, Galan A, et al. Lanthanum carbonate reduces FGF23 in chronic kidney disease Stage 3 patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(8):2567-2571.
 123. Lau WL, Leaf EM, Hu MC, et al. Vitamin D receptor agonists increase klotho and osteopontin while decreasing aortic calcification in mice with chronic kidney disease fed a high phosphate diet. *Kidney Int.* 2012;82(12):1261-1270.
 124. Jean G, Terrat JC, Vanel T, et al. High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(9):2792-2796.
 125. Nasrallah MM, El-Shehaby AR, Salem MM, Osman NA, El Sheikh E, Sharaf El Din UA. Fibroblast growth factor-23 (FGF-23) is independently correlated to aortic calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(8):2679-2685.
 126. Desjardins L, Liabeuf S, Renard C, et al. FGF23 is independently associated with vascular calcification but not bone mineral density in patients at various CKD stages. *Osteoporos Int.* 2012;23(7):2017-2025.
 127. Kendrick J, Chonchol M. The Role of Phosphorus in the Development and Progression of Vascular Calcification. *Am J Kidney Dis.* 2011;58(5):826-834.
 128. Dominguez JR, Shlipak MG, Whooley MA, Ix JH. Fractional excretion of phosphorus modifies the association between fibroblast growth factor-23 and outcomes. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24(4):647-654.
 129. Craver L, Dusso A, Martinez-Alonso M, Sarro F, Valdivielso JM, Fernandez E. A low fractional excretion of Phosphate/Fgf23 ratio is associated with severe abdominal Aortic calcification in stage 3 and 4 kidney disease patients. *BMC Nephrol.* 2013;14:221.
 130. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. In: *Ann Intern Med.* Vol 150. United States 2009:604-612.
 131. Lang F, Ritz E, Voelkl J, Alesutan I. Vascular calcification--is aldosterone a culprit? *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(5):1080-1084.
 132. Jono S, Nishizawa Y, Shioi A, Morii H. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases in vitro vascular calcification by modulating secretion of endogenous parathyroid hormone-related peptide. *Circulation.* 1998;98(13):1302-1306.
 133. Raggi P, Chertow GM, Torres PU, et al. The ADVANCE study: a randomized study to evalu-

- ate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(4):1327-1339.
134. Tonelli M, Pannu N, Manns B. Oral phosphate binders in patients with kidney failure. In: *N Engl J Med*. Vol 362. United States 2010:1312-1324.
 135. Kiu Weber CI, Duchateau-Nguyen G, Solier C, et al. Cardiovascular risk markers associated with arterial calcification in patients with chronic kidney disease Stages 3 and 4. In: *Clin Kidney J*. Vol 7. 2014:167-173.
 136. Leng GC, Fowkes FG. The Edinburgh Claudication Questionnaire: an improved version of the WHO/Rose Questionnaire for use in epidemiological surveys. *J Clin Epidemiol*. 1992;45(10):1101-1109.
 137. Evenepoel P, Meijers B, Viaene L, et al. Fibroblast Growth Factor-23 in Early Chronic Kidney Disease: Additional Support in Favor of a Phosphate-Centric Paradigm for the Pathogenesis of Secondary Hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(7):1268-1276.
 138. Verbeke F, Van Biesen W, Honkanen E, et al. Prognostic value of aortic stiffness and calcification for cardiovascular events and mortality in dialysis patients: outcome of the calcification outcome in renal disease (CORD) study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(1):153-159.
 139. Roussel R, Travert F, Pasquet B, et al. Metformin use and mortality among patients with diabetes and atherothrombosis. *Arch Intern Med*. 2010;170(21):1892-1899.
 140. Pavlovic D, Katicic D, Gulin T, Josipovic J. Vitamin d in the patients with chronic kidney disease: when, to whom and in which form. *Mater Sociomed*. 2015;27(2):122-124.
 141. Chen SC, Lee MY, Huang JC, Shih MC, Chang JM, Chen HC. Association of Ankle-Brachial Index and Aortic Arch Calcification with Overall and Cardiovascular Mortality in Hemodialysis. *Sci Rep*. 2016;6:33164.
 142. Kim H, Yoo TH, Choi KH, et al. Baseline Cardiovascular Characteristics of Adult Patients with Chronic Kidney Disease from the KoreaN Cohort Study for Outcomes in Patients With Chronic Kidney Disease (KNOW-CKD). *J Korean Med Sci*. 2017;32(2):231-239.
 143. Capusa C, Stefan G, Stancu S, Ilyes A, Dorobantu N, Mircescu G. Subclinical cardiovascular disease markers and vitamin D deficiency in non-dialysis chronic kidney disease patients. *Arch Med Sci*. 2016;12(5):1015-1022.
 144. Seifert ME, de Las Fuentes L, Ginsberg C, et al. Left ventricular mass progression despite stable blood pressure and kidney function in stage 3 chronic kidney disease. *Am J*

- Nephrol. 2014;39(5):392-399.
145. Tanaka S, Fujita S, Kizawa S, Morita H, Ishizaka N. Association between FGF23, alpha-Klotho, and Cardiac Abnormalities among Patients with Various Chronic Kidney Disease Stages. *PLoS One*. 2016;11(7):e0156860.
 146. Moe SM, Chen NX, Seifert MF, et al. A rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder. *Kidney Int*. 2009;75(2):176-184.
 147. Harvey A, Montezano AC, Touyz RM. Vascular biology of ageing-Implications in hypertension. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;83:112-121.
 148. Yankelevitz DF, Henschke CI, Yip R, et al. Second-hand tobacco smoke in never smokers is a significant risk factor for coronary artery calcification. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6(6):651-657.
 149. Mallikethi-Reddy S, Rubenfire M, Jackson LA, Brook RD. Coronary artery calcium in hypertension: a review. *J Am Soc Hypertens*. 2015;9(12):993-1000.
 150. Chen NX, Moe SM. Pathophysiology of Vascular Calcification. *Curr Osteoporos Rep*. 2015;13(6):372-380.
 151. Taksande SR, Worcester EM. Calcium supplementation in chronic kidney disease. *Expert Opin Drug Saf*. 2014;13(9):1175-1185.
 152. Vassalle C, Mazzone A. Bone loss and vascular calcification: A bi-directional interplay? *Vascul Pharmacol*. 2016;86:77-86.
 153. Lu KC, Wu CC, Yen JF, Liu WC. Vascular calcification and renal bone disorders. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:637065.
 154. Breznik S, Ekart R, Hren M, Ruprecht M, Balon BP. Radiographic assessment of vascular calcification, aortic pulse wave velocity, ankle-brachial index and fibroblast growth factor-23 in chronic hemodialysis patients. *Ther Apher Dial*. 2013;17(4):378-383.
 155. Alvaro-Afonso FJ, Lazaro-Martinez JL, Aragon-Sanchez J, Garcia-Morales E, Garcia-Alvarez Y, Molines-Barroso RJ. What Is the Clinical Utility of the Ankle-Brachial Index in Patients With Diabetic Foot Ulcers and Radiographic Arterial Calcification? *Int J Low Extrem Wounds*. 2015;14(4):372-376.
 156. Mancera-Romero J, Rodriguez-Morata A, Angel Sanchez-Chaparro M, et al. Role of an intermittent claudication questionnaire for the diagnosis of PAD in ambulatory patients with type 2 diabetes. *Int Angiol*. 2013;32(5):512-517.
 157. Bacha F, Edmundowicz D, Sutton-Tyrell K, Lee S, Tfayli H, Arslanian SA. Coronary artery calcification in obese youth: what are the phenotypic and metabolic determinants? *Di-*

- abetes Care. 2014;37(9):2632-2639.
158. Bain B. Blood Cells: A Practical Guide. New York 2014.
 159. Felker GM, Allen LA, Pocock SJ, et al. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: data from the CHARM Program and the Duke Databank. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(1):40-47.
 160. Danese E, Lippi G, Montagnana M. Red blood cell distribution width and cardiovascular diseases. *J Thorac Dis*. 2015;7(10):E402-411.
 161. Hsieh YP, Chang CC, Kor CT, Yang Y, Wen YK, Chiu PF. The Predictive Role of Red Cell Distribution Width in Mortality among Chronic Kidney Disease Patients. *PLoS One*. 2016;11(12):e0162025.
 162. Oleksiak A, Kruk M, Lenarczyk E, et al. Biomarkers for risk stratification in secondary cardiovascular prevention. A role of red blood cell distribution width and calcium score. *Atherosclerosis*. 2016;246:57-62.
 163. Lippi G, Targher G, Montagnana M, Salvagno GL, Zoppini G, Guidi GC. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133(4):628-632.
 164. Braun J, Oldendorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 1996;27(3):394-401.
 165. Nguyen PT, Coche E, Goffin E, et al. Prevalence and determinants of coronary and aortic calcifications assessed by chest CT in renal transplant recipients. *Am J Nephrol*. 2007;27(4):329-335.
 166. Shimoyama Y, Tsuruta Y, Niwa T. Coronary artery calcification score is associated with mortality in Japanese hemodialysis patients. *J Ren Nutr*. 2012;22(1):139-142.
 167. Karohl C, D'Marco L, Bellasi A, Raggi P. Hybrid myocardial imaging for risk stratification prior to kidney transplantation: added value of coronary calcium and epicardial adipose tissue. *J Nucl Cardiol*. 2013;20(6):1013-1020.
 168. Gorriz JL, Molina P, Cerveron MJ, et al. Vascular calcification in patients with nondialysis CKD over 3 years. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(4):654-666.
 169. Hu MC, Shi M, Zhang J, et al. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an auto-crine enzyme in the renal proximal tubule. *FASEB J*. 2010;24(9):3438-3450.
 170. Kanda E, Ai M, Okazaki M, Yoshida M, Maeda Y. Association of High-Density Lipoprotein Subclasses with Chronic Kidney Disease Progression, Atherosclerosis, and Klotho. *PLoS*

- One. 2016;11(11):e0166459.
171. Inci A, Sari F, Olmaz R, et al. Soluble Klotho levels in diabetic nephropathy: relationship with arterial stiffness. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(15):3230-3237.
 172. Chang WX, Xu N, Kumagai T, et al. The Impact of Normal Range of Serum Phosphorus on the Incidence of End-Stage Renal Disease by A Propensity Score Analysis. *PLoS One*. 2016;11(4):e0154469.
 173. Shin S, Kim KJ, Chang HJ, et al. Impact of serum calcium and phosphate on coronary atherosclerosis detected by cardiac computed tomography. *Eur Heart J*. 2012;33(22):2873-2881.
 174. Bolland MJ, Wang TK, van Pelt NC, et al. Abdominal aortic calcification on vertebral morphometry images predicts incident myocardial infarction. *J Bone Miner Res*. 2010;25(3):505-512.
 175. Rodondi N, Taylor BC, Bauer DC, et al. Association between aortic calcification and total and cardiovascular mortality in older women. *J Intern Med*. 2007;261(3):238-244.



